Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR ZELLULÄREN RIBONUKLEIN- UND DESOXYRIBONUKLEINSÄURESYNTHESE IM PROXIMALEN TUBULUS DER NIERE BEI RATTEN MIT ANGEBORENEM DIABETES INSIPIDUS CENTRALIS

Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Cytidin und Thymidin

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Emil Höring

aus Würzburg

Würzburg, den 10. Dezember 1979

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0040

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR ZELLULÄREN RIBONUKLEIN- UND DESOXYRIBONUKLEINSÄURESYNTHESE IM PROXIMALEN TUBULUS DER NIERE BEI RATTEN MIT ANGEBORENEM DIABETES INSIPIDUS CENTRALIS

Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Cytidin und Thymidin

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Emil Höring

aus Würzburg

Würzburg, den 10. Dezember 1979

Referent: PD Dr. med. W.-D. Heine

Korreferent: Prof. Dr. med. H.-W. Altmann

Dekan: Prof. Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 26.2.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

A. Einleitung

B. Material und Methodik

1. Tiermaterial
2. Versuchsbedingungen
3. Radioaktive Vorläufer
4. Anordnung der radioaktiven Versuche
5. Autoradiographische Technik
6. Auswertung der Autoradiogramme
7. Berechnungen
8. H^3-Aktivitätsmessungen

C. Ergebnisse

1. H^3-Cytidin-RNS-Migrationskinetik

a) im Kern
b) im Cytoplasma
c) Vergleich der absoluten Werte

2. H^3-Cytidin-RNS-Inkorporation in den verschiedenen Versuchsgruppen

a) im Kern
b) im Cytoplasma

3. H^3-Thymidin-Markierungs- und Mitoseindex
4. Größe der Kernflächen
5. Verhalten der mit Carbamazepin behandelten Tiere
6. Orientierende Untersuchung des distalen Tubulus
7. H^3-Aktivitätsmessungen

a) Niere
b) Referenzorgane Herz und Leber

D. Diskussion

1. Aussagekraft und Deutung der Autoradiogramme
2. Migrationskinetik der RNS
3. DNS-Synthese
4. RNS-Synthese in den verschiedenen Tierkollektiven
5. Größe der Kernflächen
6. Einfluß des Carbamazepin

E. Zusammenfassung
F. Abbildungen und Tabellen
G. Literaturverzeichnis

E i n l e i t u n g

Seit der Einführung der Autoradiographie in die histologische Forschung wurde es möglich, Stoffwechselvorgänge auf zellulärer, ja sogar subzellulärer Ebene zu untersuchen und den entsprechenden morphologischen Strukturen zuzuordnen. Ein weites Untersuchungsfeld autoradiographischer Arbeiten stellen die Vorgänge zellulärer Regeneration und funktioneller Anpassung an außergewöhnliche Reize dar.

In den für die vorliegende Arbeit benutzten Brattleboro-Ratten liegt ein außerordentlich günstiges biologisches Modell einer menschlichen Erkrankung, des zentralen Diabetes insipidus, vor (VALTIN, 1976). Dieser Rattenstamm wurde 1961 entdeckt (VALTIN, 1967). Die Tiere haben einen angeborenen zentralen Diabetes insipidus, der autosomal rezessiv vererbt wird. Das Merkmal ist an einen einzigen Gen-Locus gebunden (VALTIN, 1976; dort Literaturangaben; LAYCOCK, 1976). Sie entwickelten sich durch Spontanmutation und anschließende Züchtung aus Ratten des Long-Evans-Stammes, der dieses Merkmal nicht aufweist. Bei dieser Erkrankung fehlt das Antidiuretische Hormon (ADH), wodurch die Niere nicht mehr in der Lage ist, den Harn gegenüber dem Plasma zu konzentrieren. Unseres Wissens gibt es keine Arbeiten, die mit autoradiographischen Methoden untersuchen, ob dabei in der Niere irgendwelche Veränderungen des RNS- und DNS-Stoffwechsels im Sinne einer funktionellen Anpassung an die veränderte hormonale Situation auftreten. In der vorliegenden Arbeit wurden daher folgende Fragen autoradiographisch untersucht:

1. Wie verhält sich die RNS-Synthese und RNS-Migrationskinetik bei Ratten mit Diabetes insipidus im Vergleich mit gesunden Tieren?
2. Lassen sich Unterschiede feststellen, wenn die kranken Tiere hydriert werden, ad libitum Wasser aufnehmen können oder dürsten müssen?
3. Treten bei den kranken Tieren Veränderungen im DNS-Stoffwechsel und der mitotischen Aktivität der Nieren auf?
4. Verändert sich unter der Gabe von Carbamazepin (Tegretal^{R}), das in der Therapie des Diabetes insipidus

verwendet wird, der RNS-Stoffwechsel in der Niere?

B. Material und Methodik

1. Tiermaterial

Für die Versuche standen Ratten des Brattleboro- und des Long-Evans-Stammes zur Verfügung.

Die Untersuchungen wurden an 9 Long-Evans-Ratten, die die Kontrollgruppe darstellen, und an 29 Brattleboro-Ratten durchgeführt. Das Gewicht der Tiere schwankte zwischen 215 g und 342 g.

2. Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden bei einer konstanten Raumtemperatur von 23° Celsius durchgeführt (TIETZE, 1973). Als Futter wurde Altromin^{R} 1321 verwandt. Die Tiere wurden folgenden verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt:

I. Gruppe: Die 9 Kontrolltiere des Long-Evans-Stammes (LE-Ratten) konnten Futter und Wasser nach Belieben aufnehmen.

II.Gruppe: 15 Brattleboro-Ratten mit Diabetes insipidus (DI-Ratten) erhielten ebenfalls Futter und Wasser ad libitum.

III.Gruppe: Um Einflüsse eines chronischen Durstzustandes auszuschließen, erhielten 12 DI-Ratten über einen Schwanzvenenkatheter mittels einer Infusionspumpe eine Dauerinfusion von 5%-Glucose-Lösung, bis sie spontan nicht mehr tranken, mindestens bis zu einer Flüssigkeitsaufnahme/24h, die ihrem Körpergewicht entsprach.

IV. Gruppe: 2 DI-Ratten schließlich wurden einem Durstversuch unterzogen, indem sie überhaupt kein Wasser erhielten.

Um den Einfluß von Carbamazepin (Tegretal^{R}) zu untersuchen, das seit den ersten Mitteilungen von BRAUNHOFER und ZICHA (1966) bei der Therapie des Diabetes insipidus eingesetzt wird

(TIETZE, 1973; dort weitere Literaturangaben), erhielten als Gruppen V bzw. VI je 6 Tiere der Gruppe II bzw. III dieses Medikament. Um den Tieren das nahezu wasserunlösliche Carbamazepin applizieren zu können, wurde es in 1%iger Carboxymethylcellulose-(CMC)-Lösung aufgeschwemmt (5o mg Carbamazepin pro 5 ml CMC), homogenisiert und mit Schlundsonden aus flexiblem Polyäthylen zugeführt, und zwar morgens (8 h) und abends (2o.oo h) jeweils 5 mg Carbamazepin pro loo g Körpergewicht. Die Kontrolltiere erhielten zu denselben Zeitpunkten je 1 ml CMC-Lösung pro loo g Körpergewicht per Schlundsonde. Die Sondierungen wurden am wachen Tier durchgeführt (TIETZE, 1973).[1]

3. Radioaktive Vorläufer

Als Vorläufer für die RNS-Synthese wurde H^3-Cytidin verwendet. Um in DNS-Synthese begriffene Kerne zu markieren, wurde H^3-Thymidin verabreicht. Diese radioaktiv markierten Vorläufer wurden den verschiedenen Gruppen intraperitoneal und jeder radioaktiven Versuchsgruppe zu gleichen Tageszeiten injiziert.

4. Anordnung der radioaktiven Versuche

Die Tiere wurden in verschiedene Versuchsgruppen eingeteilt.

1. H^3-Cytidin-Gruppe: Injektion von 1 ml unverdünntem H^3-Cytidin mit 1,o mCi Gesamtaktivität/Tier (spezifische Aktivität: 8,42 Ci/mMol; Schwarz, Bio Research, New York). Je 12 Tiere wurden 1, 3 bzw. 15 Stunden nach Injektion getötet.
2. H^3-Thymidin-Gruppe: Injektion von 1 ml H^3-Thymidin-Lösung (verdünnt 1:1, d.h. o,5 ml H^3-Thymidin + o,5 ml physiol. NaCl-Lösung) mit 5oo µCi Gesamtaktivität / Tier (spez. Aktivität: 2o,2 Ci/mMol; Schwarz, Bio Research, New York). Die 6 Tiere wurden nach 1 Stunde getötet.

Die Tötung aller Tiere erfolgte durch Dekapitation in leichtem Ätherrausch.

---

1) Für technische Hilfe bedanken wir uns bei Frau H. Liebscher und Frau A. Riedel.

5. Autoradiographische Technik

Sobald die Tiere nach der Dekapitation ausgeblutet waren, wurden die Nieren entfernt, in Stücke zerteilt, in neutralem loo%igem Formalin 48 h fixiert, anschließend in üblicher Weise in Paraffin eingebettet und zu 3 - 4 µ dicken Schnitten verarbeitet. Diese Schnitte wurden nach Entparaffinierung in Waschlösungen gelegt, die hochkonzentriert nicht aktive Vorläufer (Cytidin und Cytidilsäure 1:1 bzw. Thymidin) enthielten. Diese inaktiven Vorläufer waren auch in der Fixationslösung schon enthalten. Durch Spülung mit inaktiven Vorläufern werden eventuell an das Gewebe adsorbierte, nicht inkorporierte radioaktive Vorläufer eliminiert

Zur Autoradiographie wurde Kodak AR lo Stripping-Film verwandt. Die Autoradiogramme wurden lo bis 5o Tage bei 4° Celsius in trockener Luft exponiert, anschließend unter konstanten Bedingungen entwickelt und fixiert. Zuletzt wurden sie durch die Emulsionsschicht mit Hämatoxylin-Eosin nachgefärbt.

6. Auswertung der Autoradiogramme

Die vorliegenden Autoradiogramme wurden bei looo-facher lichtmikroskopischer Vergrößerung ausgewertet. Es wurden nur Präparate mit 3o Tagen Expositionsdauer herangezogen.

a) Auswertung der Zellkerne

Pro Präparat wurden an verschiedenen Stellen loo Kerne proximaler Tubuluszellen ausgezählt. Dabei wurden nur rund angeschnittene Kerne berücksichtigt. Zunächst wurde der Durchmesser jedes Kernes mittels eines Skala-Mikrometers vermessen, anschließend die Silberkörner im Kern gezählt.

b) Auswertung des Cytoplasmas

Auch bei der Auswertung des Cytoplasmas wurden nur Zellen des proximalen Tubulus an verschiedenen Stellen untersucht. Mittels eines Netz-Mikrometers wurden pro Präparat die Silberkörner in jeweils 14o konstant großen Flächeneinheiten à 25 μ^2 gezählt. Diese Flächeneinheiten wurden so gewählt, daß keine Kerne und Lumina darin lagen und sich die einzelnen Einheiten auch nicht

überschnitten. Somit wurde pro Präparat eine Fläche von 3500 μ^2 ausgewertet, was der ausgewerteten Gesamt-Kernfläche entspricht.

c) Markierungs- und Mitoseindex

Zur Bestimmung des H^3-Thymidin-Markierungsindex(=Prozentsatz der während der Verfügbarkeitszeit des H^3-Thymidins in DNS-Synthese befindlicher Zellkerne) und des Mitoseindex(=Prozentsatz der zur Zeit der Tötung in Mitose stehenden Zellen) wurden pro Präparat 100 Blickfelder auf ihre Gesamtzellzahl sowie die Anzahl von Markierungen und Mitosen hin ausgezählt.

d) Orientierende Untersuchung des distalen Tubulus

Um für die Verhältnisse im distalen Tubulus einen groben Anhalt zu gewinnen, wurden in 4 Präparaten Kerndurchmesser und Silberkornzahl in Kern und Cytoplasma nach oben dargelegter Art ausgezählt.

7. Berechnungen

a) Aus den okularmikrometrisch ermittelten Kerndurchmessern wurden nach der Formel $F = r^2 \cdot \pi$ die Kernflächen berechnet.

b) Die Silberkornzahl pro Kern bzw. Flächeneinheit wurde durch die zugehörige Kernfläche bzw. Flächeneinheit dividiert; so ergibt sich die Silberkorndichte pro Flächeneinheit $1\mu^2$.

c) Die Silberkorndichte pro Flächeneinheit mußte nun auf das Gewicht des betreffenden Tieres und die verabreichte Radioaktivität umgerechnet werden, um die korrigierte Silberkorndichte zu erhalten ($SKD_{/korr.} = \frac{SKZ/\mu^2}{mC/100\ g}$)

d) Aus den Einzelwerten jedes Präparates wurde die mittlere korrigierte Silberkorndichte pro Tier einschließlich der Standardabweichung berechnet.

e) Für die einzelnen Kerndurchmesser wurde pro Tier Mittelwert und Standardabweichung berechnet.

f) Für die jeweiligen radioaktiven Versuchszeiten wurden für die Tiere der verschiedenen Versuchsgruppen die Mittelwerte bestimmt.

g) Der Markierungsindex wurde als

$$\text{Quotient} \quad \frac{\text{Markierte Zellen x 100}}{\text{Gesamtzahl aller Zellen}}$$

und der Mitoseindex als

$$\text{Quotient} \quad \frac{\text{Mitosen x 100}}{\text{Gesamtzahl aller Zellen}}$$

berechnet.

h) Zusätzlich zu Markierungs- und Mitoseindex wurde die mittlere Zellzahl pro Blickfeld und die zugehörige Standardabweichung ermittelt.

8. H^3-Aktivitätsmessungen

Um die Poolverhältnisse des freien Nukleosides unter den Versuchsbedingungen und bei den Kontrolltieren zu bestimmen, wurden Flüssigkeitsszintillationszählungen durchgeführt.

Dazu wurden eingebettete Stücke von Nieren, Herz und Leber entparaffiniert und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Jeweils etwa 2o mg wiegende Gewebsproben wurden in einer Sauerstoffatmosphäre verbrannt und die Aktivität des so entstandenen Wassers in einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer (Tricarb 2425 der Fa. Packard, La Grange, Illinois, USA) gemessen. Als Szintillationsmedium diente Monophase ^{TM}4O, die mittlere Zählausbeute lag bei 12%.

Die erhaltenen Impulszahlen wurden unter Berücksichtigung des Gewichts der Gewebeprobe, der H^3-Aktivitätsmengen und des Tiergewichts korrigiert und miteinander verglichen (FIRSCHING, 1979).

C. Ergebnisse

1. H^3-Cytidin-RNS-Migrationskinetik

a) Im Kern

Die Figur 1 gibt die mittlere korrigierte Silberkorndichte einschließlich der Standardabweichung für jedes untersuchte Tier ($SKD_{/m}$) jeweils nach einer radioaktiven Versuchszeit von 1, 3 und 15 Stunden wieder. Dabei sind die Tiere nach ihrer Gruppenzugehörigkeit angeordnet.

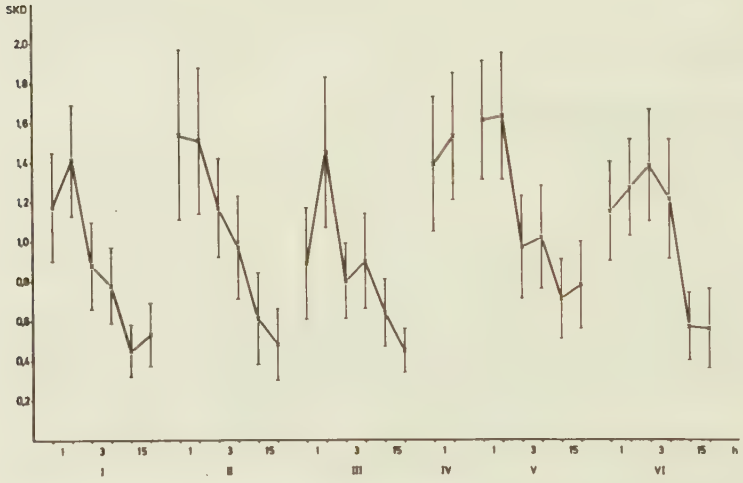


Fig. 1: Mittlere korrigierte Silberkorndichte über den Kernen der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus; Migrationskinetik der RNS. I: Long Evans, II: Brattleboro, Diab. insip., III: Brattleboro, Diab. insip., Dauerinfusion, IV: Brattleboro, Diab. insip., Durstversuch, V: Brattleboro, Diab. insip. + Carbamazepin, VI: Brattleboro, Diab. insip., Dauerinfusion + Carbamazepin.

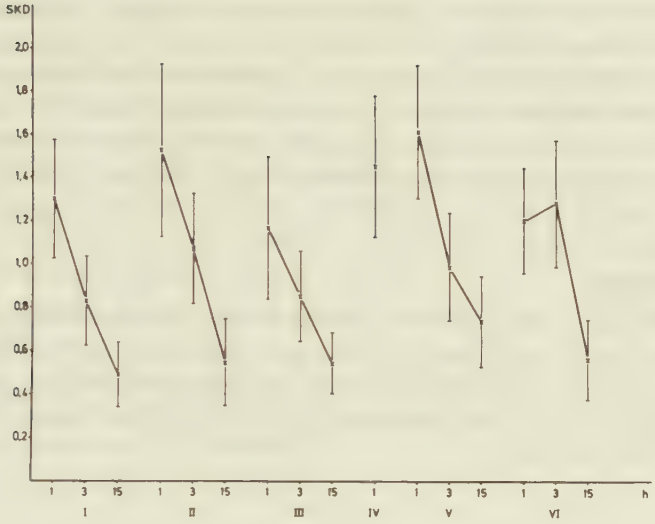


Fig. 1a: Mittlere korrigierte Silberkorndichte über den Kernen der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus, Mittelwerte der einzelnen Gruppen; Migrationskinetik der RNS; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

Die I. Gruppe umfaßt die 6 Kontroll-Tiere, die II. Gruppe 6 Diabetes insipidus- Ratten (= DI-Ratten), die Futter und Wasser ad libitum erhielten, die III. Gruppe 6 DI-Ratten, denen Flüssigkeit in Form einer Dauerinfusion zugeführt wurden und die IV. Gruppe schließlich 2 DI-Tiere, die einem Durstversuch ausgesetzt waren. Die V. Gruppe setzt sich aus 6 DI-Ratten zusammen, die ebenfalls Wasser ad libitum erhielten, denen aber Carbamazepin (Tegretal^{R}) appliziert wurde, ebenso wie die 6 DI-Ratten der VI. Gruppe, die dauerinfundiert wurden.

In der I. Gruppe sind die Werte der mittleren korrigierten Silberkorndichte nach 1 h radioaktiver Versuchszeit deutlich höher als nach 3 h und diese Werte wiederum höher als nach 15 h. Auch in der II., III., V. und VI. Gruppe zeigen die Werte für 1, 3 und 15 h ein analoges Verhalten, mit folgenden Ausnahmen:

In der III. Gruppe liegt der 1-h-Wert beim ersten Tier bereits ausgesprochen niedrig. In der VI. Gruppe sind die 3-h-Werte am höchsten.

Die beiden Tiere der IV. Gruppe waren beide einer 1-stündigen Versuchszeit ausgesetzt.

Aus der Figur 1 ergibt sich also - unter Berücksichtigung der erwähnten Besonderheiten - daß in allen Gruppen (ohne IV) im Kern eine Abnahme der mittleren korrigierten Silberkorndichte in Abhängigkeit von der Dauer der radioaktiven Versuchszeit auftritt.

b) Im Cytoplasma

Die Änderungen der mittleren korrigierten Silberkorndichte in Abhängigkeit von 1-, 3- und 15-stündiger radioaktiver Versuchszeit im Cytoplasma einschließlich der Standardabweichungen veranschaulicht Figur 2. Die Zuordnung der Tiere zu den sechs Gruppen entspricht der im Kern.

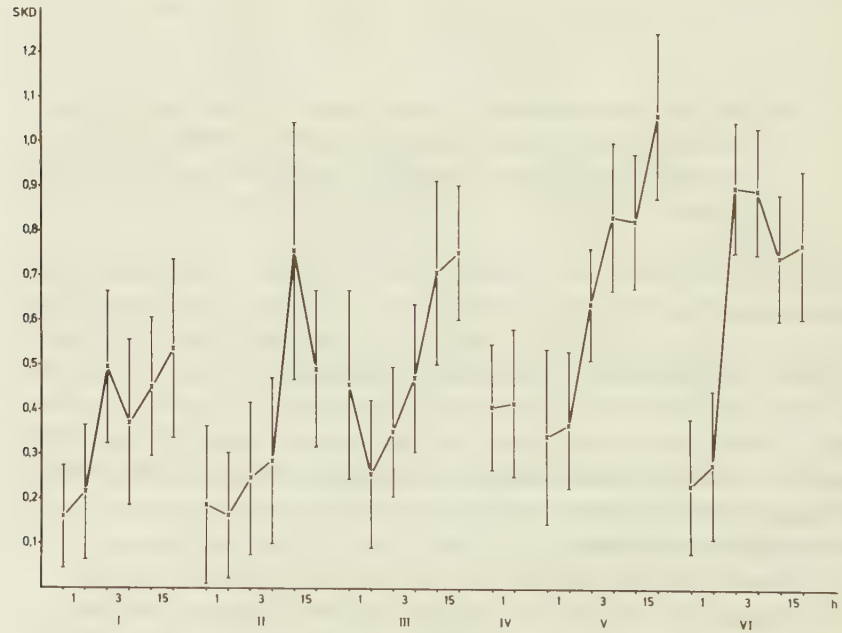


Fig. 2: Mittlere Silberkorndichte über dem Cytoplasma der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus; Migrationskinetik der RNS; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

In der I. Gruppe - den Kontrollen - zeigt sich ein Ansteigen der Werte mit der Dauer des radioaktiven Versuchs. Dabei liegt jedoch der erste 3-h-Wert höher als die folgenden Werte.

Auch in der II., III., V. und VI. Gruppe steigen die Werte zu den verschiedenen Versuchszeiten deutlich von 1 zu 15 h hin an.

Auffällig ist der - im Verhältnis zu den parallelen Werten - bereits relativ hohe erste 1-h-Wert in der III. Gruppe, sowie die 3-h-Werte der VI. Gruppe, die über den anderen Tieren der Gruppe liegen, genauso wie im Kern.

Die beiden Tiere der IV. Gruppe wurden dem 1-stündigen Versuch unterzogen.

Aus den Ergebnissen der Figur 2 läßt sich also - unter Berücksichtigung der beschriebenen Ausnahmen - ein Ansteigen der mittleren korrigierten Silberkorndichte im Cytoplasma in Abhängigkeit von der radioaktiven Versuchsdauer entnehmen.

c) Vergleich der absoluten Werte

Vergleicht man die mittleren korrigierten Silberkorndichten in Kern und Cytoplasma, läßt sich für alle Gruppen Folgendes feststellen:

Die Werte im Cytoplasma liegen in einem Bereich von o,16 bis 1,o6, im Kern von o,45 bis 1,63. Die mittlere korrigierte Silberkorndichte im Kern ist also - vergleicht man jeweils korrespondierende Versuchszeiten - höher als im Cytoplasma.

2. H^3-Cytidin-RNS-Inkorporation in den verschiedenen Versuchsgruppen

a) Im Kern

Um die verschiedenen Versuchsgruppen in quantitativer Hinsicht deutlicher vergleichen zu können, wurden aus den der Versuchszeit zugehörigen mittleren korrigierten Silberkorndichten jedes einzelnen Tieres Mittelwerte für die jeweilige Versuchszeit gebildet. In Figur 3 wurden daher diese Mittelwerte (Tab. 1) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit aufgetragen. Für die Zeit zwischen 3 und 15 h lagen keine Versuche vor.

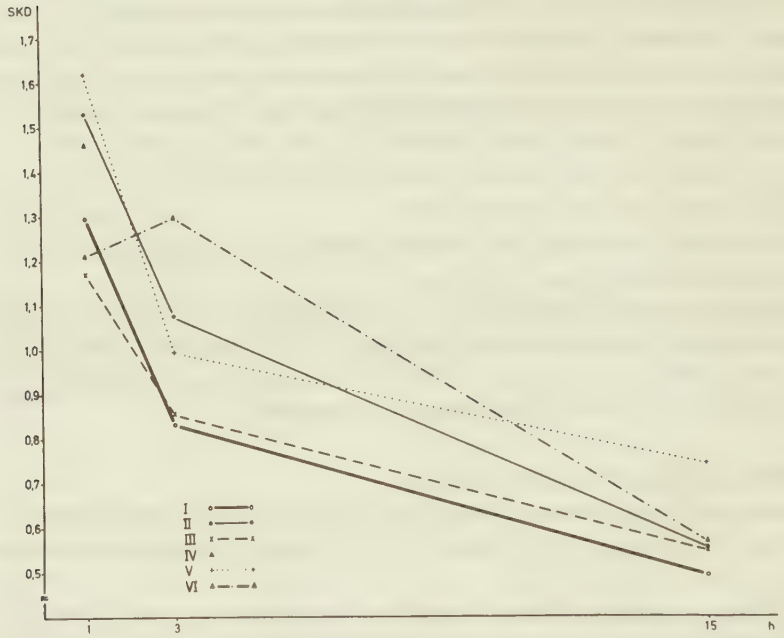


Fig. 3: Mittlere korrigierte Silberkorndichten über den Kernen der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus, Mittelwerte der einzelnen Gruppen; Migrationskinetik der RNS; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

Es zeigt sich, daß die Kurven aller DI-Ratten bei höheren Werten verlaufen als die der Kontrollgruppe (Gruppe I). Nur der 1-h-Wert der III. und VI. Gruppe liegt etwas niedriger als der Vergleichswert der Kontrollen.

Die mittlere korrigierte Silberkorndichte nimmt bei den Gruppen I, II und III im Bereich von 1 h bis zu 3 h deutlich stärker ab als zwischen 3 h und 15 h.

Vergleicht man die - nicht mit Carbamazepin behandelten - Tiere untereinander, so fällt auf, daß die dauerinfundierten, d.h. hydrierten Ratten (Gruppe III) niedrigere Aktivität zeigen als diejenigen, die nach ihrem Durst (Gruppe II) tranken oder gar dürste-

ten (Gruppe IV). Bezüglich der mit Carbamazepin behandelten Tiere siehe C. 5.

b) Im Cytoplasma

Auch für den quantitativen Vergleich der mittleren korrigierten Silberkorndichten im Cytoplasma wurden für die 6 Versuchsgruppen Mittelwerte (Tab. 2) errechnet und in Figur 4 ebenfalls als Funktion der Zeit dargestellt.

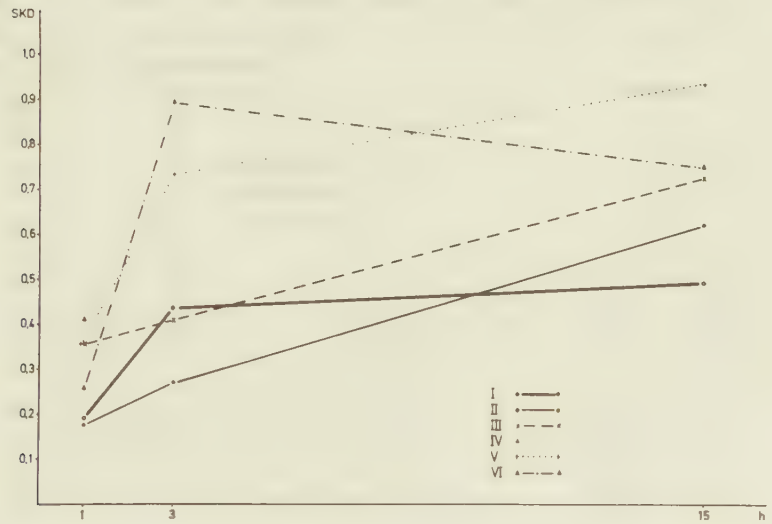


Fig. 4: Mittlere korrigierte Silberkorndichte über dem Cytoplasma der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus; Migrationskinetik der RNS; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

Hier hat nach 15 h die Kontrollgruppe wieder die niedrigsten Werte. Nach 3 h liegen die Gruppe II und III jedoch unter den Kontrollwerten. Die III. Gruppe liegt höher als die II. Gruppe. Der Mittelwert der IV. Gruppe liegt am höchsten.

Die relative Zunahme der mittleren korrigierten Silberkorndichte pro Zeiteinheit ist bei den Kontrollen im Bereich von 1 bis 3 h stärker als im Bereich von 3 bis 15 h; bei den Gruppen II und III ist sie annähernd konstant. Über das Verhalten der Gruppen V und VI gibt C. 5 Auskunft.

3. H^3-Thymidin-DNS-Markierungs- und Mitoseindex

Figur 5 veranschaulicht graphisch die Ergebnisse der Zählung H^3-Thymidin markierter Kerne für 3 Tiere der Kontrollgruppe (I. Gruppe) sowie 3 DI-Ratten (II. Gruppe). Eingezeichnet ist der mittlere Markierungs- und Mitoseindex für jede Gruppe. Zusätzlich ist die mittlere Kernzahl pro Blickfeld und Gruppe mit den zugehörigen Standardabweichungen aufgetragen.

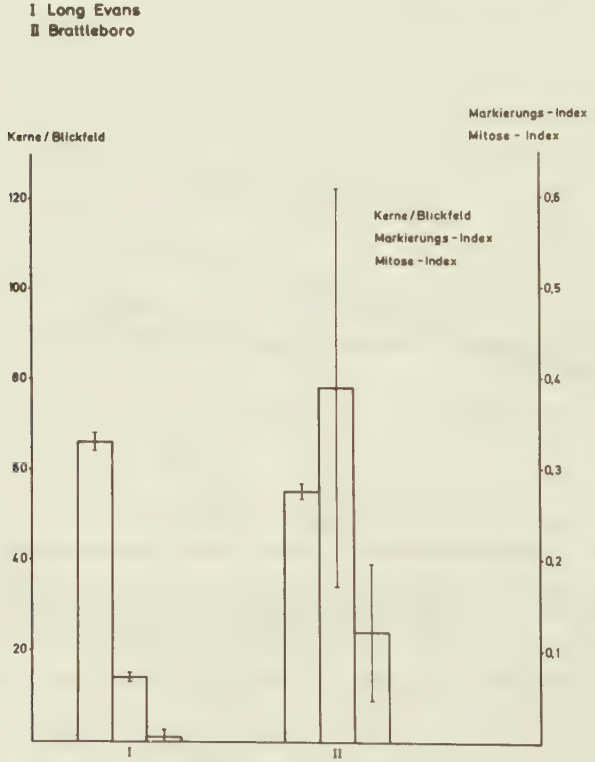


Fig. 5: Zelldichte, ^{3}H-Thymidin-Markierungs-Index, Mitoseindex im proximalen Nierentubulus.

In der I. Gruppe liegt der Mittelwert der Markierungsindices bei 0,07, der Mitoseindices bei 0,005. In der II. Gruppe liegt der Mittelwert des Markierungsindex um etwa den Faktor 6 höher, nämlich bei 0,39. Die Mitoseindices sind ebenfalls stark erhöht gegenüber den Kontrollen; ein mittlerer Mitoseindex von 0,12

bedeutet eine Erhöhung um etwa den Faktor 12.

Die mittlere Kernzahl pro Blickfeld liegt bei der Gruppe II etwas niedriger als bei der Gruppe I. (Einzelwerte siehe Tab. 4).

4. Größe der Kernflächen

Okularmikrometrisch wurden die Kerndurchmesser und für jedes Tier der Mittelwert bestimmt. Diese mittleren Kerndurchmesser sind mit den zugehörigen Standardabweichungen in Figur 6 und 6a aufgetragen. Die Gruppenzugehörigkeit der Werte ist aus der Figur ersichtlich.

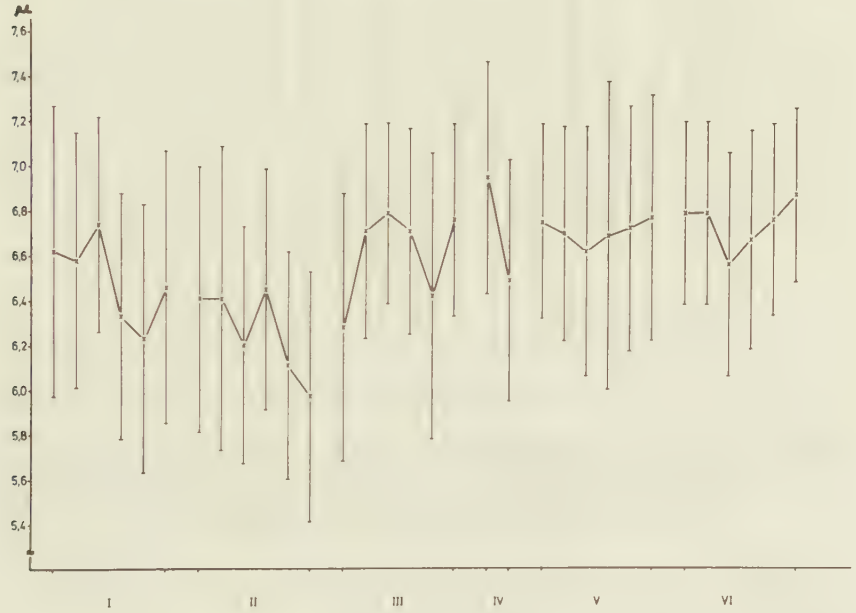


Fig. 6: Mittlere Kerndurchmesser der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

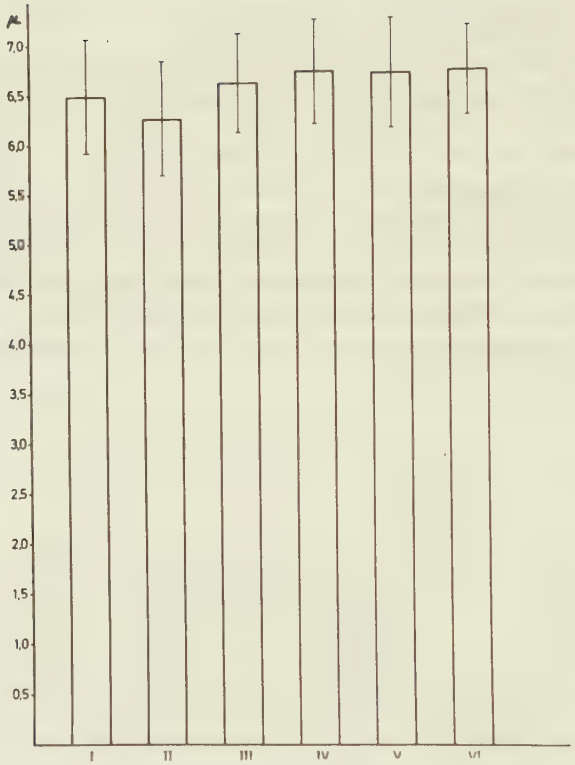


Fig. 6a : Mittlere Kerndurchmesser der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus, Mittelwerte der einzelnen Gruppen; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

Es zeigt sich, daß die Werte für die III. bis VI. Gruppe wenig höher liegen als in den Gruppen I und II.

Berechnet man wiederum die durchschnittlichen mittleren Flächen für die sechs Gruppen, so ergeben sich für die DI-Ratten zur Kontrollgruppe geringe Unterschiede um Änderungsfaktoren von 1,oo2 - 1,o6 für Gruppe II nach unten, für Gruppen III bis VI nach oben (Tab. 3, Fig. 7).

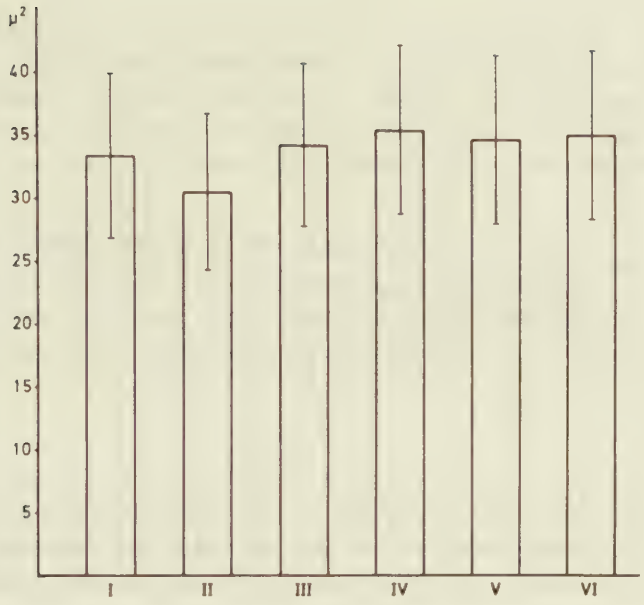
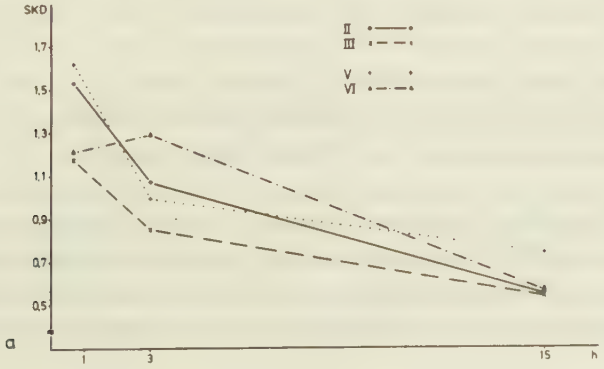


Fig. 7: Kernflächen der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus, Mittelwerte der einzelnen Gruppen; Gruppenerklärung siehe Legende zu Figur 1.

5. Verhalten der mit Carbamazepin behandelten Tiere

a) Mittlere korrigierte Silberkorndichte im Kern

Eine Gegenüberstellung der Mittelwerte der mittleren korrigierten Silberkorndichten der Tiere, die mit Carbamazepin behandelt wurden (Gruppen V und VI) und der unbehandelten Tiere bringt Figur 8a.



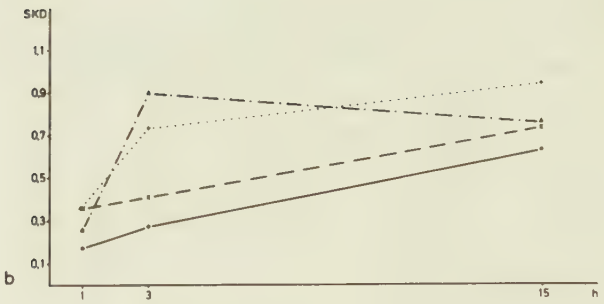


Fig. 8: Migrationskinetik der RNS in den Epithelzellen des proximalen Nierentubulus mit und ohne Gabe von Carbamazepin; a) im Kern b) im Cytoplasma; II: Brattleboro, Diab. insip., III: Brattleboro, Diab. insip., Dauerinfusion, V: Brattleboro, Diab. insip. + Carbamazepin, VI: Brattleboro, Diab. insip., Dauerinfusion + Carbamazepin.

Dabei läßt sich für die Silberkorndichte im Kern feststellen: In der Gruppe V liegen der 1- und der 15-h-Wert über den entsprechenden Werten der unbehandelten Tiere (Gruppe II), der 3-h-Wert liegt darunter. In der Gruppe VI liegen alle Werte über den zugehörigen Werten der unbehandelten Gruppe (Gruppe III). Auffällig ist in dieser Gruppe jedoch, daß die mittlere korrigierte Silberkorndichte erst nach 3 h den höchsten Wert erreicht. (Dieser abweichende Kurvenverlauf zeigt sich auch in Figur 1, wo in der VI. Gruppe die Werte des 3-h-Versuchs aus dem Niveau der übrigen Werte nach oben hin herausfallen).

b) Mittlere korrigierte Silberkorndichte im Cytoplasma

Auch die Silberkorndichte im Cytoplasma verhält sich in einigen Punkten anders als bei den unbehandelten Tieren (Figur 8b): In der Gruppe V ist die Silberkorndichte zu allen Versuchszeiten größer als bei den unbehandelten Tieren der Gruppe II. Auch bei Gruppe VI, im Vergleich zu Gruppe III, ist dies - mit Ausnahme des 1-h-Wertes - der Fall, wobei wiederum - ebenso wie im Kern - bereits nach 3 h

die höchste Silberkorndichte erreicht ist und nach 15 h wieder abfällt. (Auch dieser Kurvenverlauf ist aus Fig. 2 ersichtlich mit den hohen 3-h-Werten in Gruppe VI).

Es zeigt sich also - in Kern und Cytoplasma - bei den mit Carbamazepin behandelten Tieren die Tendenz zu höherer Aktivität.

6. Orientierende Untersuchung des distalen Tubulus

Um einen orientierenden, groben Vergleich anstellen zu können, wurde je ein Tier nach 1-stündiger und nach 15-stündiger radioaktiver Versuchszeit mit einem entsprechenden Kontrolltier verglichen.

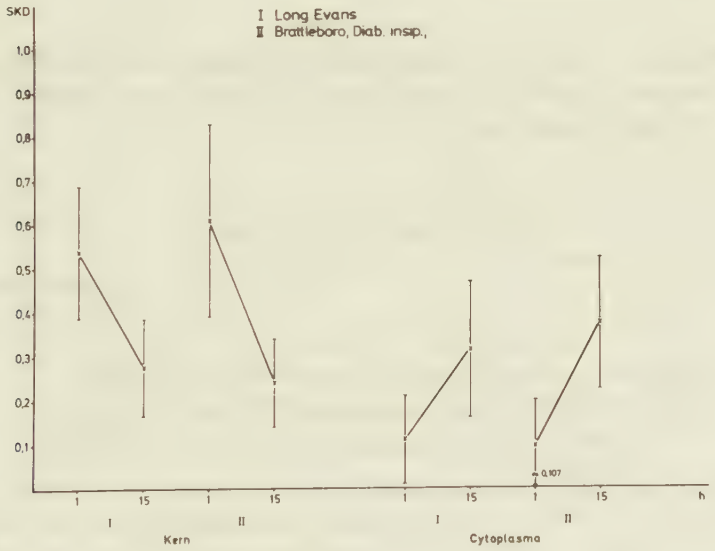


Fig. 9: Mittlere korrigierte Silberkorndichte über Kern und Cytoplasma der Epithelzellen des distalen Nierentubulus, Migrationskinetik der RNS.

Die Ergebnisse, die in Figur 9 graphisch dargestellt sind, zeigen einen gegenüber dem 1-h-Wert deutlich erniedrigten 15-h-Wert der mittleren korrigierten Silberkorndichte im Kern bei der I. und II. Gruppe. Im Cytoplasma liegen reziproke Verhältnisse vor.

Es fällt jedoch auf, daß die absoluten Werte der mittleren korrigierten Silberkorndichten tiefer liegen als im proximalen Tubulus. Die 1-h-Werte liegen unter o,7 gegenüber bis zu 1,6 im proximalen Tubulus. Auch im Cytoplasma liegen die absoluten Werte niedriger, nämlich unter o,4 gegenüber bis zu 1,o6 im proximalen Tubulus.

Damit verhält sich die mittlere korrigierte Silberkorndichte im distalen Tubulus in ihrer Abhängigkeit von der radioaktiven Versuchszeit analog dem proximalen Tubulus bei absolut niedrigeren Werten.

7. H^3-Aktivitätsmessungen

a) Niere

Die Figuren 1o und 11 dokumentieren die Ergebnisse der H^3-Aktivitätsmessungen, einmal in Abhängigkeit von der Versuchsdauer, zum anderen als Säulendiagramm.

Fig. 1O: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} / \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^{3}H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Nierengewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1, 3 und 15 Std. radioaktiver Versuchsdauer.

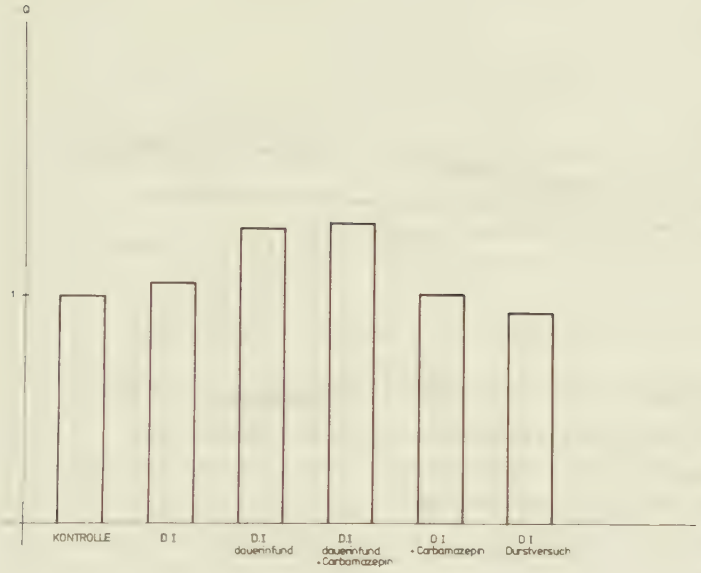


Fig. 11: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} \Big/ \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^{3}H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Nierengewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1 Std. radioaktiver Versuchsdauer (Kontrolle = 1).

Es zeigt sich, daß - mit Ausnahme der DI-Tiere, die neben Wasser ad libitum zusätzlich Carbamazepin erhalten bzw. Durst gelitten hatten - alle DI-Tiere höhere Aktivitäten aufweisen als die Kontrollen.

b) Referenzorgane Herz und Leber

Die Aktivitäten aller Tiere im Herzgewebe (Fig. 12 und 13) zeigen nur geringe Schwankungen in Abhängigkeit von der Versuchsdauer. Auch hier haben die DI-Ratten - zumindest nach 15 h - höhere Werte aufzuweisen als die Kontrolltiere. Lediglich die Gruppe V (Diabetes insipidus, Wasser ad libitum, Carbamazepin) liegt wie im Nierengewebe niedriger.

Fig. 12: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} \Big/ \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^3H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Herzgewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1, 3 und 15 Std. radioaktiver Versuchsdauer.

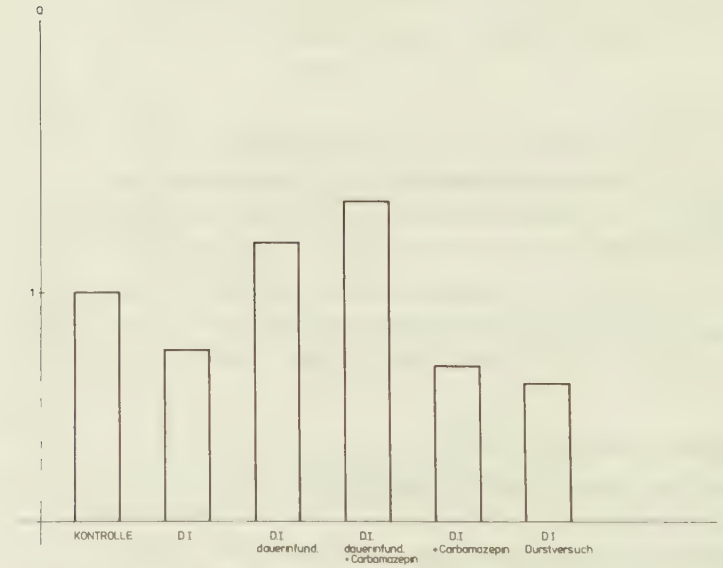


Fig. 13: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} \Big/ \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^3H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Herzgewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1 Std. radioaktiver Versuchsdauer (Kontrolle = 1)

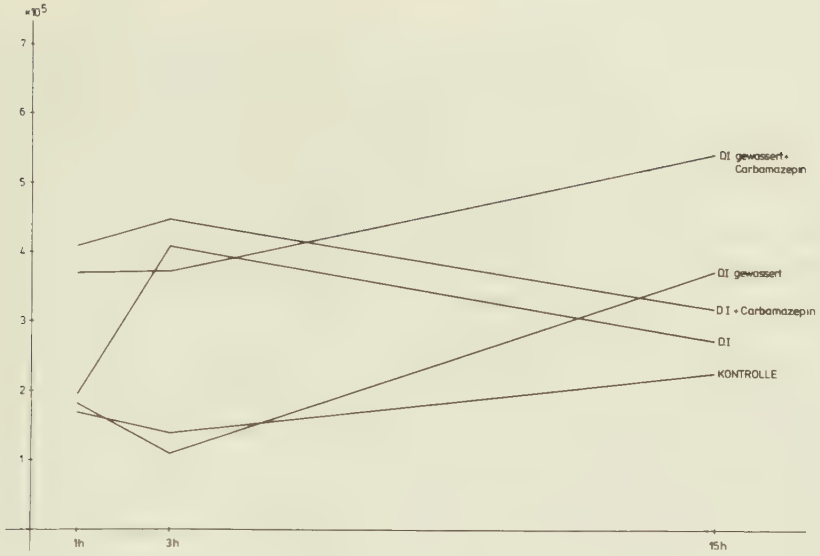


Fig. 14: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} \Big/ \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^3H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Lebergewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1, 3 u. 15 Std. radioaktiver Versuchsdauer.

Im Lebergewebe (Fig. 14 und 15) schwanken die Werte in Abhängigkeit von der Versuchsdauer stärker als im Herz. Auch hier weist die Kontrollgruppe die niedrigsten Werte auf. Die Tegretal-Tiere haben die höchsten Aktivitäten aller Gruppen.

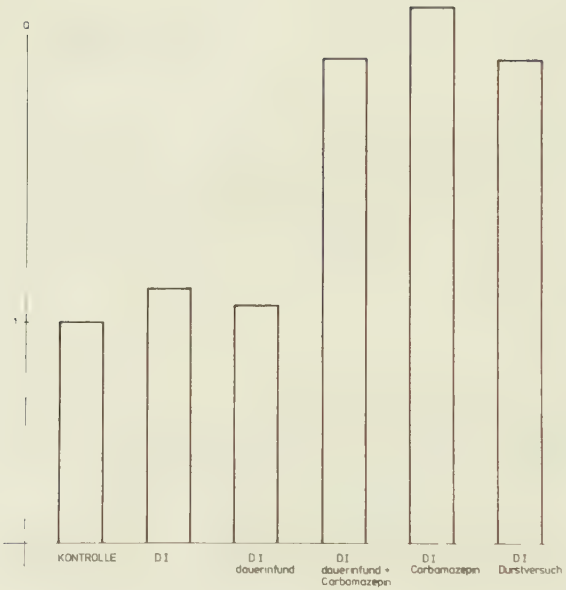


Fig. 15: Mittlerer Q-Wert ($Q = \frac{Ipm}{g} \Big/ \frac{\mu Ci}{g\ Körpergew.}$) nach ^{3}H-Cytidin-Aktivitätsmessung im Lebergewebe von Kontroll- und Versuchstieren nach 1 Std. radioaktiver Versuchsdauer (Kontrolle = 1).

D. Diskussion

1. Aussagekraft und Deutung der Autoradiogramme

Zunächst soll kurz auf die Grundlagen der Auswertung von Autoradiogrammen eingegangen werden:

Da Tritium eine maximale Energie von 18 keV aufweist, haben die von ihm ausgesandten β-Teilchen in der photographischen Emulsion nur eine Reichweite von etwa 1 µ, d.h. die Schwärzung der Emulsion ist nur auf eine 1 µ dicke Schicht begrenzt.
Ebenso trägt auch nur die 1 µ dicke Schicht des Schnittes, die direkt unter der Emulsion liegt, zur Schwärzung bei (SCHULTZE, 1968). Daher beträgt das hervorragende autoradiographische Auflösungsvermögen von Tritium etwa $\frac{2}{3}$ µ und ist damit nicht viel geringer als das optische. Auf Grund dieser physikalischen Gegebenheiten kann man nach der Applikation von H^3-markierten Substanzen die in den Autoradiogrammen geortete Radioaktivität ohne nennenswerte Fehlerquote den unmittelbar unter dem Film liegenden Zellstrukturen zuordnen (STÖCKER, 1963).
Will man Radioaktivitäten in Autoradiogrammen verschiedener Versuchsobjekte quantitativ miteinander vergleichen, ist vorauszusetzen, daß sie auch eine gleiche Massenbelegung (mg/cm²/µ) aufweisen (STÖCKER, 1963; ROBKE, 1967; LIEBSCHER, 1970; vgl. auch SCHULTZE, 1968).
Mit einer Zu- oder Abnahme der Massenbelegung ändert sich nämlich gleichsinnig auch die Höhe der β-Selbstabsorption durch das Trockenmaterial des Schnittes und damit in entgegengesetztem Sinne die Anzahl der entstehenden Silberkörner (Literatur bei SCHULTZE, 1968). Soweit dies lichtmikroskopisch beurteilbar ist, zeigen die Zellen der verschiedenen Tiere keine Hinweise auf eine Verschiedenheit der Massenbelegung und entsprechen damit obiger Voraussetzung. Eine weitere Voraussetzung für die Aussagekraft und Vergleichbarkeit von Silberkorndichten als Maß des Einbaus der radioaktiven Vorläufer ist zu beachten: Der injizierte radioaktive Vorläufer wird im Organismus mit den dort natürlicherweise vorhandenen, nicht markierten gleichen Vorläufern vermischt und entsprechend verdünnt. Änderungen an dem Pool dieser natürlichen Vorläufer wirken sich so selbstverständlich auch auf den zugeführten Vorläufer und damit die spezifische Aktivität aus. Wenn die speziellen Versuchsbedingungen diesen Pool änderten, könnten die gemessenen Silberkornzahlen allein durch diese Veränderung bedingt sein und fälschlicherweise

als Zu- oder Abnahme der Synthese interpretiert werden. Nur wenn die mittlere spezifische Aktivität also in allen untersuchten Organismen am Ort der RNS-Synthese - in unserem Fall im Nierentubulus - zu allen Versuchszeiten und -bedingungen konstant ist, läßt sich aus den ermittelten Silberkorndichten auf eine entsprechend korrelierte Einbaurate schließen (MÜLLER, MAURER, 1965; SCHULTZE, 1968, dort Literatur). Um diese Poolverhältnisse abzuklären, wurden die Aktivitätsmessungen mit dem Flüssigkeitsszintillationszähler in den Nieren und den Referenzorganen Herz und Leber durchgeführt (vgl. C. 7). Ist für die Zellen dieser Referenzorgane die Umsatzrate zu allen Zeitpunkten konstant, läßt sich dieser Schluß - wie MÜLLER und MAURER (1965) betonen - auch auf die Niere übertragen, da der Austausch der Vorläufer im Organismus sehr schnell vonstatten geht. Wie die H^3-Cytidin-Aktivitätsmessungen im Herz zeigen, ist diese Konstanz bei Kontroll- und Versuchstieren annähernd festzustellen. Sie weisen geringe Aktivitätsunterschiede auf. Als Fehlerquellen sind hier einmal die starke biologische Variationsbreite und die Streuung bei den Aktivitätsmessungen, zum anderen aber auch Fehler bei der Gewinnung des zu messenden Organmaterials zu nennen; ebenso ist zu bedenken, daß bei der Aktivitätsmessung im Flüssigkeitsszintillationszähler durch die Veraschung des gesamten Organstückes ja auch die Aktivitäten verschiedener Gewebesorten in das Ergebnis eingehen (LIEBSCHER, 1970; vgl. auch ROBKE, 1963). Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte darf man also wohl in den vorliegenden Untersuchungen einen unveränderten Pool annehmen. Auffällig ist aber das Verhalten der Leber, in der sehr viel stärkere Schwankungen sowohl in Abhängigkeit von der radioaktiven Versuchszeit als auch im Vergleich der verschiedenen Tierkollektive auftreten. Als empfindliches zentrales Stoffwechselorgan des Körpers spiegelt sie die oben erwähnten Fehlerquellen vielleicht stärker wieder. Eventuell mag auch die im folgenden (D. 4) noch zu erörternde besondere physiologische Situation der DI-Tiere hier ihren Niederschlag finden.

Zur Untersuchung des RNS-Metabolismus wurde als Vorläufer H^3-Cytidin injiziert. Verschiedene Untersuchungen sprechen nämlich stark dafür, daß der Inkorporation dieses Nukleosides eine Neubildung von RNS zu Grunde liegt (Literatur bei STÖCKER, 1963; SCHULTZE, 1968). Es weist zwar neben Uridin die größte Spezifität als Vorläufer der RNS-Synthese auf, doch ist auch damit keine

selektive Markierung der RNS zu erreichen. Zu einem ganz geringen Anteil - bei Zellarten mit geringer Proliferation, wie der Niere zu wesentlich weniger als 5 % - wird es durch Umwandlung in die Desoxy-Form in die DNS eingebaut. Darüber hinaus werden durch die Fixation - in Abhängigkeit von der Zusammensetzung und dem pH der Lösung - bestimmte Anteile der RNS herausgelöst und zwar neben der löslichen auch unterschiedliche Anteile der makromolekularen, gebundenen RNS. Damit erfaßt die Cytidin-Autoradiographie nur die nicht herausgelösten, fixierbaren, also in erster Linie makromolekularen RNS-Fraktionen. Von der gesamten in der Zelle enthaltenen RNS finden sich etwa 15 % im Zellkern, wovon der größte Teil an Proteine gebunden und nur maximal 5 % frei in Lösung sind. Letzterer entspricht der transfer-RNS. Die cytoplasmatischen RNS-Fraktionen bestehen zu 75 % aus der an Protein gebundenen, ribosomalen RNS und der Rest aus der löslichen mikromolekularen RNS (FEINENDEGEN, BOND, SHREEVE, PAINTER, 1960; STÖCKER, 1963; SCHULTZE, 1968). Nach Aussagen STÖCKER's wird "mit dieser, primär makromolekularen, fixierbaren RNS autoradiographisch einmal die relativ stoffwechselträge, stabilisierende ribosomale RNS und sicher zum anderen auch die messenger-RNS" erfaßt. Besonders die letztere, also "gerade die für die Informationsübertragung von der DNS zur Protein-Biosynthese wichtige RNS-Fraktion dürfte wesentlich zur autoradiographischen Schwärzung beitragen, weil sie sich nämlich durch eine ganz außerordentlich hohe metabolische Aktivität auszeichnet" (STÖCKER, 1963, S. 49; dort auch Literaturangaben).

Für die Verwendung des Thymidins als Vorläufer der DNS-Synthese ergeben sich fast keine Probleme. Es ist gesichert, daß es während seiner kurzen Verfügbarkeitszeit selektiv in neu synthetisierte DNS und nur in vernachlässigbarem Umfang in andere Bausteine als DNS und praktisch nicht in RNS eingebaut wird (STÖCKER, 1963; SCHULTZE, 1968; dort Literatur).

2. Migrationskinetik der RNS

Um einen Einblick in die Verteilung der RNS in den beiden Zellkompartimenten Kern und Cytoplasma nach verschieden langer radioaktiver Versuchsdauer zu gewinnen, wurden die Silberkornzahlen über Kern und Cytoplasma getrennt ausgezählt. Die Ergebnisse (vgl. C. 1, 2) dieser Zählungen stimmen mit anderen Arbeiten darin überein, daß sie ebenfalls eine Abnahme der Silberkornzahl über dem Kern und eine entsprechende Zunahme über dem Cytoplasma als Funktion der Versuchszeit zeigen (dazu zahlreiche Literaturangaben bei SCHULTZE, 1968). Dieses Phänomen spiegelt den RNS-Transport vom Kern zum Cytoplasma wieder. Die Dauer, die diese Wanderung in Anspruch nimmt, scheint in allen Zellen ungefähr gleich zu sein (FEINENDEGEN, BOND, SHREEVE, PAINTER, 1960; FEINENDEGEN, BOND, PAINTER, 1961; PERRY, ERRERA, HELL, DÜRWALD, 1961; SCHULTZE, 1968). Die in den untersuchten Autoradiogrammen festgestellte unterschiedliche Aktivitätsänderung pro Zeiteinheit für Kern und Cytoplasma mit einem steileren Verlauf zwischen 1 und 3 h und einem flacheren zwischen 3 und 15 h entspricht gut den Untersuchungen von STÖCKER (1963) und ROBKE (1967). STÖCKER bringt die geringere Aktivitätszunahme im Cytoplasma nach längerer Versuchsdauer mit einem eventuellen Umsatz der RNS, die in dieser Zeit in das Cytoplasma gewandert ist, in Zusammenhang.

Die Ergebnisse zeigen weiterhin, daß die markierte, d. h. neugebildete RNS-Menge, ausgedrückt in der Silberkornzahl, die während der Versuchszeit erfaßt wird, im Kern größer ist als im Cytoplasma. Dies stimmt mit anderen autoradiographischen Untersuchungen überein und ist auch leicht verständlich, da praktisch die gesamte RNS der Zelle im Kern gebildet wird (SCHULTZE, 1968); im Cytoplasma dagegen erscheint nur vom Kern eingewanderte RNS, die wiederum, wie weiter oben erwähnt, einem - unter konstanten Bedingungen in fast allen Zellen annähernd gleichen (SCHULTZE, 1968) - Umbau ausgesetzt ist. Es existiert eine Proportionalität zwischen der Größe des RNS- und des Eiweißstoffwechsels, wobei die Niere auf Grund des unterschiedlichen Verhaltens ihrer einzelnen Zellen eine gewisse Sonderstellung einzunehmen scheint; daß dies so ist, erscheint SCHULTZE naheliegend zu sein, da "sich gerade in der Niere Zellstoffwechsel, Ausscheidung und Rückresorption in schwer übersehbarer Weise überlagern" (SCHULTZE, 1968, S. 559). Bezüglich des Eiweißstoffwechsels der Diabetes insipidus Ratten sei auf APETZ (1980) verwiesen.

Als wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit darf also festgehalten werden, daß der Mangel an ADH, den die DI-Ratten aufweisen, keine Auswirkungen auf die Tatsache der Wanderung der RNS vom Kern ins Cytoplasma zu haben scheint. Die in Abschnitt C. 1,2 erläuterte Ausnahme in der VI. Gruppe läßt sich wohl mit der biologischen Varianz erklären. Auch im distalen Tubulus scheint diese Migrationskinetik erhalten zu sein (vgl. C. 6).

3. DNS-Synthese

Im Hinblick auf die Frage einer eventuellen funktionellen Anpassung der Tubuluszellen im Rahmen des Diabetes insipidus lag es nahe, den H^3-Thymidin-Markierungsindex zu bestimmen (vgl. C. 3). Dabei ist jedoch nach SCHULTZE (1968) zu berücksichtigen, daß der Markierungsindex nur zu einer groben Abschätzung der Proliferationsrate führen kann. Mit einer einmaligen Injektion von H^3-Thymidin werden nämlich nur die Zellen markiert, die sich während der Verfügbarkeitszeit des Thymidins in der DNS-Synthese-Phase (= S-Phase) befinden. Je nach der Zeitdauer bis zur Tötung treten nämlich immer mehr Zellen in diese Phase ein, ebenso wie auch Zellen aus ihr heraus über die G_2-Phase in die Mitosephase gelangen. Zudem besteht eine enge Beziehung zwischen dem Markierungs- und Mitoseindex, die durch eine entsprechend gleichbleibende Dauer der Generationsphasen bedingt ist, wobei der Markierungsindex immer 8 - 15 mal größer ist als der Mitoseindex (SCHULTZE, 1968). Die S-Phase beträgt in den Tubuluszellen der Rattenniere etwa 16 - 18 h (STÖCKER, HEINE, 1965; HEINE, STÖCKER, 1972). Somit hängen also Markierungs- und Mitoseindex absolut von der Länge der zugehörigen Phasen ab (STÖCKER, HEINE, 1965).

Die diesbezüglichen Ergebnisse zeigen ebenfalls einen höheren Markierungs- als Mitoseindex bei Kontrollen und DI-Tieren, wenn auch der Vergleichsfaktor unter 8 liegt. Gegenüber den von HEINE und STÖCKER (1972) für Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 2 - 3 Monaten angegebenen Markierungsindices von 0,67 % und 0,56 % und Mitoseindices von 0,03 % und 0,07 % für das Stratum labyrinthicum und Stratum subcorticale (das sind die beiden äußeren 2 Schichten der Niere) fanden sich bei den von uns untersuchten Long-Evans-Ratten Markierungsindices von etwa 0,07 % und Mitoseindices von 0 - 0,01 % bei den Kontrolltieren. Dies findet seine Erklärung in der anderen Ratten-Spezies. Auch das höhere Alter der von uns

untersuchten Tiere trägt dazu bei (vgl. STÖCKER, TEUBNER, ROSENBUSCH, 1964). Jedenfalls ist insofern eine Übereinstimmung zu sehen, als die Markierungs- und Mitoseindices, damit die Proliferationsaktivität, in der Niere sehr niedrig sind.

Zwischen den DI-Ratten und den Kontrollen sieht man einen deutlichen Unterschied, indem nämlich die Markierungs- und Mitoseindices bei den kranken Tieren höher sind als bei den Kontrollen. Wie aus dem bisher Gesagten ersichtlich ist, kann dies Verhalten entweder durch eine gesteigerte Proliferation oder/und durch eine Veränderung der Dauer der Generationsphase bedingt sein. Die von SCHULTZE (1968) referierten Möglichkeiten der Beeinflussung des Generationszyklus durch Faktoren wie γ-Strahlen, Keimfreiheit, Ovarialhormone und Temperaturschwankungen dürften bei der Art der Versuchsbedingungen als Erklärung ausscheiden. Wie HEINE, STÖCKER und HEINE (1970 und 1971) mitteilten, unterliegt die DNS-Synthese einem tageszeitlichen Rhythmus mit einem morgendlichen Mitosemaximum. Da jedoch DI-Ratten und Long-Evans-Ratten zu selben Zeiten radioaktives Material erhielten und getötet wurden, trägt auch dies nicht zur Erklärung des Unterschiedes bei. Auch mit höherem Alter treten Störungen des Generationszyklus auf, wodurch mehr Zellen mit höherploiden Kernen auftreten (PAULINI, BENEKE, KULKA, 1970). Die DI-Tiere hatten aber kein höheres Alter als die Long-Evans-Tiere. In zahlreichen Arbeiten konnte nachgewiesen werden, daß auch in solch stabilen Geweben, wie es die Niere darstellt, eine Steigerung der Proliferation möglich ist. Als Proliferationsstimuli dienten dabei mehr oder weniger große Nephrektomien und temporäre Ischämie einer Niere (STÖCKER, CAIN, HEINE, 1964; STÖCKER, HEINE 1965 a und 1965 b; STÖCKER, HEINE, 1971; HEINE, STÖCKER, 1971 und 1972; ROMEN, HEINE, 1972). So kann die Proliferationsaktivität bei der kompensatorischen Regeneration nach 2/3 Nephrektomie auf das 20-fache des Kontrollwertes (HEINE, STÖCKER, 1971), oder durch einseitige temporäre Ischämie die DNS-Syntheserate in der nicht unterbundenen Niere auf das Doppelte der Kontrollwerte ansteigen (STÖCKER, HEINE, 1965 a).
Die Größe der Zellproliferation hängt von der Stärke des Proliferationsreizes ab; bei genügender Reizstärke wird der Proliferationsmodus dem schnell proliferierender Organe angeglichen. Diese experimentellen Ergebnisse führten zu der Annahme eines negativen Rückkoppelungsmechanismus als Steuerprinzip der Rege-

neration. Die hemmenden Faktoren, als Chalone bezeichnet, die den Übergang der Zelle aus dem Ruhe- in das Proliferationsstadium verhindern, sollen nach diesem Modell jeweils von den Zellen produziert werden, die auf Grund rhythmischer Prozesse in eine Phase kurz vor der S-Phase eintreten (HEINE, 1973). Dabei muß in hoch differenzierten Organen noch zwischen einer irreversiblen postmitotischen "non-growth- und einer growth-fraction" unterschieden werden (HEINE, STÖCKER, 1971 und 1972).

Die höheren Markierungs- und Mitoseindices der DI-Ratten lassen an einen Einfluß von Hormonen, speziell des Wachstumshormones (STH=GH) denken. So vermutete VALTIN (1967), ADH beeinflusse die Sekretion von STH. Experimentell konnten VALTIN, SOKOL, SUNDE (1975) nachweisen, daß durch Applikation von STH das Wachstum von Brattleboro-Ratten, das sonst abnormal ist, gesteigert werden konnte. Sie schlossen daraus auf einen Mangel an STH bei den DI-Tieren. WRIGHT und KUTSCHER (1977) konnten zeigen, daß die Applikation von ADH bei diesen Tieren das Wachstum nicht normalisiert und widersprachen damit der These, normales Wachstum hänge von der Anwesenheit von ADH ab. Demgegenüber berichten HUNT, PERRIS, SANDFORD (1977), daß ADH eine stimulierende Wirkung auf das blutbildende Knochenmark nach einer Blutung aufweist, die also bei DI-Ratten fehlt. Diese Ergebnisse sprechen wohl nicht für einen direkten Einfluß des ADH-Mangels im Sinne eines Proliferationstimulus für die Niere, lassen ihn aber auch nicht ausschließen. Da in der Niere sehr komplizierte physiologische und biochemische Prozesse ablaufen, die verschiedenen Regelmechanismen unterliegen und auf den Gesamtorganismus einwirken, könnte die Störung dieses Gleichgewichtes, die beim Diabetes insipidus vorliegt - einmal was die hormonelle, zum anderen die Elektrolyt- und Wasser-Homoiostase und damit die elektrischen Membrankräfte betrifft - im Sinne eines Proliferationsstimulus oder einer Alteration der Generationsphasen wirken. HÜBNER und KRONENBERG (1970) stellten in autoradiographischen Untersuchungen fest, daß nach doppelseitiger Adrenalektomie und temporärer Ischämie der Nieren die übliche Regenerationskinetik im Sinne eines verzögerten, aber verstärkten Thymidineinbaues und einer Mitosehäufung gestört ist und diskutierten als Ursache einen Mangel an Chalonen, also den natürlichen Mitosehemmern, als Folge der Adrenalektomie. Diese Hypothese weist also dem Mangel an NNR-Hormonen eine Steigerung des

Mitoseindex zu. Sie könnte einen Beitrag zum Verständnis der höheren Markierungs- und Mitoseindices bei DI-Ratten liefern. Denn Messungen der Plasmaspiegel von Corticosteron und Aldosteron bei Brattleboro-Ratten ergaben signifikant niedrigere Werte als bei den Kontrollen (MÖHRING, MÖHRING, SCHÖMIG, SCHÖMIG-BREKNER, HAACK, 1974). In Übereinstimmung mit diesem Befund zeigten anatomische Untersuchungen signifikant verkleinerte Nebennieren (LAYCOCK, 1977; dort Literaturangaben). Somit liegt möglicherweise also eine ähnliche, graduell allerdings verschiedene Situation wie in den beschriebenen Versuchen nach Adrenalektomie vor, nämlich ein Mangel an NNR-Hormonen, dem - wie oben berichtet - eine modifizierende Wirkung auf die DNS-Synthese zugeschrieben wird.

Bei der Diskussion der gesteigerten Zellproliferation in den Nieren der DI-Ratten verdient eine weitere wesentliche Tatsache Berücksichtigung: Bei der makro- und mikroskopischen Betrachtung erscheinen sie kleiner als üblich. Man muß also davon ausgehen, daß die absolute Zellzahl verringert ist und die vorhandenen Tubuluszellen vermutlich kompensatorisch eine vermehrte Funktionsleistung erbringen. Sie wären damit einem erhöhten Verschleiß ausgesetzt. Elektronenmikroskopisch konnte APETZ (1980) die in den Tubuluszellen bereits lichtmikroskopisch aufgefallenen Vakuolen als lysosomale Strukturen vom auto- und heterophagischen Typ identifizieren. Sie weisen dasselbe Bild auf wie die pigmentierten Vakuolen bei generalisierter Nierenatrophie und bei geschädigten oder durch Arbeitsüberlastung funktionell erschöpften Tubuluszellen (ROMEN, BANNASCH, 1972; CAIN, KRAUS, 1972). Diese Befunde können somit als Hinweis auf einen vorzeitigen Zellverschleiß verstanden werden. Ein erhöhter Zellverschleiß führt dann auf Grund des im Vorhergegangenen erwähnten negativen Rückkoppelungsmechanismus aber zu einem gesteigerten Ersatzwachstum, was die Erhöhung der Proliferationsrate erklären könnte.

Dieses biologische Phänomen dürfte die entscheidende Ursache für die Proliferationssteigerung sein, deren Ausmaß und Ablauf durch die alterierte hormonale Situation beeinflußt wird.

4. RNS-Synthese in den verschiedenen Tierkollektiven

Vor der Diskussion der verschiedenen Ergebnisse der H^3-Cytidin-Inkorporation in den einzelnen Versuchsgruppen sollen erst einige physiologische und anatomische Aspekte der DI-Tiere erläutert werden:

Die Brattleboro-Ratten nehmen täglich eine Wassermenge von 55 - 12o % ihres Körpergewichtes auf und scheiden eine tägliche Urinmenge von etwa 7O % ihres Körpergewichtes aus (VALTIN, 1967 und 1976; BALMENT, JONES, HENDERSON, OLIVER, 1976). Damit beträgt ihr Urinvolumen das 18-fache der Kontrollen, ähnlich verhalten sich die Relationen bei den Trinkmengen. Diese Polyurie und Polydipsie sind gekoppelt mit der Ausscheidung eines extrem hypotonen Urins, dessen Osmolalität zwischen 1oo und 2oo mosmol/l H_2O beträgt (LAYCOCK, 1977), damit nicht einmal die Hälfte der Plasmakonzentration, während sie bei den Kontrollen etwa das 8-fache beträgt (TIETZE, 1973). BALMENT, HENDERSON, OLIVER (1975) fanden ein Verhältnis der Urin- zur Plasmaosmolarität von durchschnittlich O,5 gegenüber 5,O bei Nicht-DI-Ratten. Anatomische und biochemische Untersuchungen ergaben, daß homozygote DI-Ratten einen absoluten ADH-Mangel in Plasma, Neurohypophyse und Hypothalamus (Nuclei supraopticus und paraventricularis) aufweisen, der durch einen Defekt der Neurone in den erwähnten Kernen bedingt ist, die ADH und Vasopressin-Neurohypophysin, das ADH-Trägerprotein bilden (VALTIN, SAWYER, SOKOL, 1965; TIETZE, 1973; VANDESANDE, DIERICKX, 1976; VALTIN, SOKOL, SUNDE, 1975; ROSENBLOOM, FISHER, 1975; MÖHRING, MÖHRING, 1975; FIRSCHING, 1979). Dabei weist das Hypothalamisch-Neurohypophysäre System eine Hypertrophie bei einer gleichzeitigen Verminderung der Neurosekretgranula auf. Dieser anatomische Befund weist auf einen exzessiv gesteigerten Stoffwechsel dieses Systems hin (SOKOL, VALTIN, 1965;TIETZE, 1973). Durch diese Hyperstimulation des Hypothalamisch-Neurohypophysären Systems unterscheidet sich der Diabetes insipidus der Brattleboro-Ratten von der Erkrankung des Menschen, bei der eine Hypo- oder Atrophie gefunden wird (VALTIN, 1976).

Die verschiedenen Versuchsgruppen sind physiologisch dadurch gekennzeichnet, daß sich die Gruppe II, die Wasser ad libitum erhielt, dauernd in einem leichten Durstzustand befindet, was sich in der Tatsache äußert, daß ihre Plasmakonzentration etwas über der der Kontrollen liegt (TIETZE, 1973). Bei den dauerin-

fundierten Ratten kann man davon ausgehen, daß sie keinen Durst leiden, da sie spontan nicht mehr trinken. Bei dehydrierten Tieren, wie sie die IV. Gruppe darstellt, ist die Überstimulation des Hypothalamisch-Neurohypophysären Systems am stärksten ausgeprägt; so ist bei ihnen dadurch selbst der Gehalt an Oxytocin einschließlich seiner Neurophysine herabgesetzt. Durch eine Hydrierung läßt er sich auf normale Spiegel anheben, wobei ADH und sein Neurophysin natürlich weiterhin fehlen (VALTIN, SOKOL, SUNDE, 1975).

Unter Berücksichtigung der Erörterungen von D. 1, nach denen die Silberkorndichten als ein Maß der RNS-Synthese angesehen werden können, lassen die von uns ausgewerteten Autoradiogramme (vgl. C. 2) die Tendenz der Kontrolltiere zu den im Vergleich mit den DI-Tieren niedrigsten Werten feststellen. Auch die Aktivitätsmessungen der Niere im Flüssigkeitsszintillationszähler (vgl. C. 7) sprechen dafür. (Über das andersartige Verhalten der mit Carbamazepin behandelten Tiere folgen Erörterungen im Abschnitt D. 6.) Die Tiere im Durstversuch weisen sowohl im Kern als auch im Cytoplasma einen relativ hohen Wert auf, während hydrierte und ad libitum trinkende Tiere im Kern und Plasma ein verschiedenes Verhalten zeigen. Aus diesem Grund läßt sich keine sichere Aussage darüber machen, ob der Umstand der Hydrierung einen Einfluß auf die RNS-Synthese-Aktivität ausübt oder nicht.

Für die Beurteilung der tendenziell höheren Syntheseaktivität der DI-Ratten ist bei einem so komplexen und vielschichtig regulierten Organsystem wie der Niere die gesamte pathophysiologische Situation dieser Tiere zu berücksichtigen. So weist auch LAYCOCK (1977) in diesem Zusammenhang mit Nachdruck darauf hin, bei der Interpretation von experimentellen Ergebnissen müsse man bei den DI-Ratten auf jeden Fall die sekundären Defekte wie renale und endokrine Besonderheiten in die Überlegungen miteinbeziehen.

BALMENT, HENDERSON, OLIVER (1975) ermittelten bei den DI-Ratten höhere Plasmareninaktivitäten als bei den Kontrollen. Diesem Laborbefund entsprechen anatomische Untersuchungen, die eine Hyperplasie des juxtaglomerulären Apparates bei Patienten mit Diabetes insipidus ergaben (SONDEREGGER, 1974). Bei unseren Versuchstieren stellte APETZ (1980) eine vermehrte Granulierung in den juxtaglomerulären Zellen fest, ein Befund, der in dieselbe Richtung weist.

Diese Ergebnisse ließen sich nun dahingehend interpretieren, daß bei den DI-Ratten der Renin/Angiotensin/Aldosteron-Mechanismus aktiviert sei und damit ein Hyperaldosteronismus vorliegen könnte, wie er von Patienten mit Diabetes insipidus bekannt ist (vgl. dazu: SIEGENTHALER, WERNING, VETTER, 1976). Dem widersprechen jedoch die bereits in Abschnitt D. 3(dort Literaturangaben) dargelegten Erkenntnisse von verkleinerten Nebennieren und erniedrigtem Aldosteronspiegel bei DI-Ratten. Wir müssen also bei den DI-Tieren - im Gegensatz zu den Befunden beim Menschen - von einem Hypoaldosteronismus ausgehen. Mit der Feststellung erniedrigter Aldosteron- und ADH-Spiegel läßt sich die verminderte Aktivität des Enzyms Adenylcyclase im Nierenmark von DI-Ratten, über die DOUSA, HUI und BARNES (1975) berichten, gut vereinbaren. Wir wissen nämlich, daß viele Hormone über eine Aktivierung des Adenylcyclase/cyclo-AMP-Mechanismus wirken (vgl. dazu WEISBECKER, 1973).

Der Diabetes insipidus ist pathophysiologisch durch eine Hypokaliämie charakterisiert. Diese Hypokaliämie läßt sich durch ADH-Applikationen beheben, während ADH jedoch bei Normaltieren keinen Einfluß auf das Kalium-Gleichgewicht hat. Dabei scheint der ADH-Mangel selbst über die Beeinflussung des tubulären Durchflusses und die damit verbundenen Änderungen im Elektrolytgleichgewicht für die Entstehung der Hypokaliämie eine große Bedeutung zu haben. So könnte die Applikation von ADH durch die verstärkte Wasserrückresorption und die damit einhergehende Reduktion des transtubulären Na-Konzentrationsgradienten die elektrochemischen Kräfte für die K-Ausscheidung herabsetzen; eine Herabsetzung der K-Ausscheidung erfolgt schon allein durch die verminderte Wasserausscheidung unter ADH; ADH könnte den aktiven K-Transport verstärken oder den K/H-Austauschmechanismus beeinflussen. Welche dieser theoretischen Wirkungen wirklich vorliegt, ist noch unklar. Jedenfalls könnte der ADH-Mangel über diese chronische Hypokaliämie zu einer sogenannten hypokaliämischen Nephropathie führen, die wiederum einen ADH-resistenten Konzentrierungsdefekt hervorruft (LAYCOCK, 1977). Auf Grund histologischer Befunde wird eine hypokaliämische Nephropathie bei DI-Ratten diskutiert (MÖHRING, SCHÖMIG, BREKNER, MÖHRING, 1972; MÖHRING, DAUDA, HAACK, HOMSY, KOHRS,MÖHRING, 1972; MÖHRING, MÖHRING, DAUDA, HAACK, 1974). Nach BOHLE (1974) und EIGLER (1976) äußert sich die hypokaliämische Nephro-

pathie histologisch in grober vakuolärer Degeneration der Hauptstückepithelien, die mit mangelhafter Konzentrationsleistung der Niere einhergeht und zunächst noch reversibel ist. Wie in Abschnitt D. 3 bereits berichtet, waren Vakuolen auch bei unseren Tieren vorhanden, elektronenmikroskopisch erwiesen sie sich jedoch hauptsächlich als Lysosomen; der für eine hypokaliämische Nephropathie typische Befund hydropischer Vakuolen ließ sich nicht erheben (APETZ, 1980). Diese Vakuolen können vielmehr als Folge funktioneller Überlastung verstanden werden (Literatur vgl. D. 3) und wären damit ein morphologisches Korrelat eines gesteigerten Stoffwechsels bei leistungsbedingter Mehrbeanspruchung der Einzelzellen.

Den Einfluß einer Hypokaliämie kann man allerdings nicht sicher ausschließen. Daß dadurch bedingte Tubulusveränderungen wiederum zu Alterationen des RNS-Stoffwechsels der Zelle führen könnten, etwa im Sinne einer reaktiven Steigerung, ist denkbar. Die Bedeutung eines solchen Vorgangs läßt sich aber nicht abschätzen.

Bei der Deutung der vorliegenden Ergebnisse muß ein weiteres physiologisches Charakteristikum der Brattleboro-Ratten bedacht werden: Bereits VALTIN (1967) entwickelte die Hypothese, diese Ratten wiesen deswegen eine reduzierte Größe gegenüber Kontrolltieren auf, weil sie sehr viel Energie darauf verwenden müßten, größere Wassermengen zu trinken und diese auf Körpertemperatur anzuwärmen und damit die für das Wachstum benötigte Energie verbrauchten. Dementsprechend erwiesen Untersuchungen bei homozygoten DI-Ratten, daß deren Futteraufnahme in 24 h um etwa 3 - 4 g oder 9 - 12 cal höher ist als bei heterozygoten Tieren. Ebenso tranken heterozygote Tiere dann die gleiche Menge wie homozygote, wenn ihnen entsprechend mehr Kalorien zugeführt wurden (LAYCOCK, 1977). Der Autor schließt daraus, daß die zusätzliche Kalorienaufnahme benötigt wurde, um solche großen Mengen Flüssigkeit zu trinken. In dem reduzierten Wachstum und dem verminderten Fettansatz sieht er die Konsequenz der Tatsache, daß die DI-Ratten nicht soviel Energie aufnehmen könnten, wie sie für das Trinken der großen Flüssigkeitsmengen und dabei noch ausreichendes Wachstum benötigten. Damit bestätigt er die oben erwähnte Hypothese VALTIN's.

Legt man diese Erkenntnisse zu Grunde, so muß man davon ausgehen, daß sich die DI-Tiere in einem dauernden Hungerzustand,

einem Fasten entsprechend, befinden. IZAWA (1976) wies in experimentellen Untersuchungen an Ratten nach, daß sich die Halbwertszeit der RNS - ein Parameter für den RNS-Umsatz - beim Fasten in der Niere von normalerweise 3,5 auf 2,5 Tage verkürzt. Da sich Synthese- und Abbaurate der RNS unter entsprechenden Bedingungen gleichsinnig ändern (Literatur bei IZAWA, 1976), kann die Steigerung der Umsatzrate, ausgedrückt in einer Verkürzung der Halbwertszeit, durchaus mit einer Verstärkung der RNS-Synthese einhergehen. Somit ließe sich die Zunahme der RNS-Synthese-Aktivität bei den DI-Tieren auf ihren dauernden Hungerzustand zurückführen. (Die in der Leber bei den Aktivitätsmessungen beobachteten erhöhten Werte (vgl. C. 7, D. 1) der DI-Tiere ließen sich bei dieser Deutung gut erklären, da nach IZAWA (1976) beim Fasten auch in diesem Organ die RNS-Halbwertszeit von 6,0 Tage auf 3,5 Tage verkürzt wird).

5. Größe der Kernflächen

Eine gesteigerte synthetische Aktivität ist häufig mit einer "funktionellen Kernschwellung" verbunden (ALTMANN, 1952). Dabei steigt das Kernvolumen proportional zur gesteigerten RNS-Synthese-Aktivität an. Neben diesem Phänomen existiert noch eine sogenannte "pathologische Kernschwellung", bei der eine Entkoppelung zwischen Volumen- und Aktivitätszunahme auftritt (STÖCKER, 1963; dort auch Literatur; LIEBSCHER, 1970).

Um die Kerne auf dieses Phänomen hin zu überprüfen, wurden auch in den von uns untersuchten Autoradiogrammen die Kernflächen bestimmt. Dabei ergaben sich zwischen den verschiedenen Gruppen Änderungsfaktoren von 1,002 bis 1,06 (vgl. C. 4). Bei der recht groben Bestimmungsmethode der Kerndurchmesser (vgl. B. 6) muß aber eine gewisse Fehlerbreite berücksichtigt werden. Daher darf man wohl aus diesen geringen Unterschieden keine verwertbaren Aussagen zu der Frage einer funktionellen oder pathologischen Kernschwellung ableiten. (Vgl. dazu auch die Ergebnisse von STÖCKER, 1963; LIEBSCHER, 1970). (Man vergleiche dazu auch die Anzahl der Kerne pro Blickfeld in Fig. 5 und C. 3). Da auch die Aktivitäten, wie in den vorhergehenden Abschnitten erörtert, relativ diskrete, in der Tendenz aber durchaus verwertbare Unterschiede zeigen, wäre es jedoch denkbar, daß diesem Verhalten auch nur eine sehr

geringe Schwellung des Kernes entspräche, die nur durch sehr feine Methoden klar erfaßt werden könnte.

6. Einfluß des Carbamazepins

In Versuchen mit Brattleboro- und Long-Evans-Ratten konnte TIETZE (1973) aufzeigen, daß Carbamazepin (Tegretal^{R}) keine Wirkung auf die DI-Ratten hatte, während es bei menschlichem Diabetes insipidus zu einer Harnkonzentrierung führt. Aus diesen Ergebnissen schloß er auf einen zentralen Angriffspunkt des Medikamentes, indem es die insuffiziente Produktion oder Freisetzung (oder beides) von ADH zu stimulieren vermag. Er verneinte somit ein Angreifen an der Niere.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit (vgl. C. 5) weisen auf eine Tendenz zu einer etwas höheren Aktivität dieser Tiere hin, wobei nach kurzen Versuchszeiten (1 h, 3 h) geringe Verschiebungen auftreten. Diese Tendenz ist im Cytoplasma deutlicher. Daß die 2 dauerinfundierten Tiere der Versuchszeit 3 h (Gruppe VI) höhere Aktivitäten als die entsprechend behandelten nach 1 h und 15 h aufweisen, läßt sich mit der biologischen Varianz erklären. Es ist auffällig, daß die Aktivitätsmessungen im Flüssigkeitsszintillationszähler im Nieren- und Herzgewebe der V. Gruppe (Carbamazepin-behandelte Tiere, Wasser ad lib.) niedrigere Werte zeigen als die Kontrollen. Dieser Widerspruch muß im Methodischen begründet liegen.

Warum die Tiere, die Carbamazepin erhielten, tendenziell höhere Aktivitäten haben als die unbehandelten, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Vielleicht spielt eine Beeinflussung des gesamten Stoffwechsels durch die Leber eine Rolle. Es ist bekannt, daß Carbamazepin in der Leber eine Enzyminduktion (REMMER, 1972) und in höherer Dosierung eine Schädigung bewirken kann (JURNA, 1975). Für Letzteres liegen bei den untersuchten Tieren keine makroskopisch-pathologischen Hinweise vor. Bei den Aktivitätsmessungen der Leber zeigen die Carbamazepin-behandelten Ratten nach 1 und 3 h relativ hohe Aktivitäten, was im obigen Sinne interpretiert werden muß. Selbstverständlich ist auch ein direkter Einfluß auf den zellulären Stoffwechsel der Niere trotz der oben beschriebenen Ergebnisse von TIETZE nicht auszuschließen. Es ist nämlich bekannt, daß auch die proximalen Tubuluszellen speziell in der Pars recta eine Entgiftungsfunktion besitzen,

wenn auch in geringerem Maße als die Leberzellen (ROMEN, 1976). Somit könnte Carbamazepin auch in der Niere eine Enzyminduktion und damit eine Steigerung des Stoffwechsels der Zelle bewirken.

E. Zusammenfassung

An Brattleboro-Ratten, die einen genetisch bedingten zentralen Diabetes insipidus aufweisen, und an Long-Evans-Ratten als Kontrolltieren, aus denen der Brattleboro-Stamm durch Spontanmutation einst hervorgegangen ist, wurde der RNS- und DNS-Stoffwechsel der Zellen des proximalen Nierentubulus durch Injektion von H^3-Cytidin bzw. H^3-Thymidin untersucht.

Die Diabetes insipidus Tiere (=DI-Tiere) wurden gruppenweise folgenden Versuchsbedingungen unterzogen: 1) Wasseraufnahme ad libitum, 2) Dauerinfusion von 5% Glucose, 3) Durstversuch, 4) Wasseraufnahme ad libitum und Carbamazepin (Tegretal^R)-Injektion, 5) Dauerinfusion und Carbamazepin. Die Ratten, die H^3-Cytidin erhalten hatten, wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion getötet, nämlich nach 1, 3 und 15 h, die Tiere der H^3-Thymidin-Serie nach 1 h.

Folgende Ergebnisse zeichneten sich ab:

1) In allen Versuchsgruppen nimmt die H^3-Cytidin-Inkorporation, die als Ausdruck der RNS-Synthese gelten kann, mit Zunahme der radioaktiven Versuchszeit im Kern ab, während sie im Cytoplasma entsprechend zunimmt. Dabei ist die Aktivitätsänderung pro Zeiteinheit in den ersten Stunden größer als in der Zeit zwischen 3 und 15 h. In diesem Verhalten wird ein Transport vom Kern ins Cytoplasma gesehen. Dabei ist die RNS-Aktivität über dem Kern größer als im Cytoplasma, da praktisch die gesamte RNS im Kern produziert wird. Der Diabetes insipidus beeinflußt also die übliche Migrationskinetik der RNS nicht.
2) Es zeigt sich die Tendenz, daß alle DI-Ratten eine höhere RNS-Synthese-Aktivität aufweisen als die Kontrollen. Die dürstenden Tiere scheinen im Vergleich mit am stärksten betroffen zu sein, während die hydrierten und die ad libitum trinkenden Tiere keine eindeutig zu fassenden verschiedenen Aktivitäten zeigen. Als Ursache dieses Verhaltens der DI-

Tiere wird zum einen der Einfluß einer bei ihnen eventuell auftretenden hypokalämischen Nephropathie, zum anderen eine funktionelle Mehrbelastung der Einzelzelle, schließlich der bei ihnen vorliegende chronische Hungerzustand als Stimulus einer gesteigerten RNS-Umsatzrate und einer damit erhöhten Synthese - und/oder Abbaurate diskutiert.

3) Die DI-Ratten haben einen höheren Mitoseindex und H^3-Thymidinmarkierungsindex, der als Maß der Zellneubildung gilt, als die Kontrollen. Als mögliche Ursache kommt ein gesteigertes Ersatzwachstum bei erhöhtem Zellverschleiß modifiziert durch das veränderte hormonale Gleichgewicht und den verschobenen Wasser- und Elektrolythaushalt in Frage.

4) Die Tiere, denen Carbamazepin injiziert wurde, zeigen tendenziell eine etwas höhere Aktivität als ihre unbehandelten Kontrollen, deren Ursache eventuell in einer Steigerung der Entgiftungsfunktion auch der Niere liegen könnte.

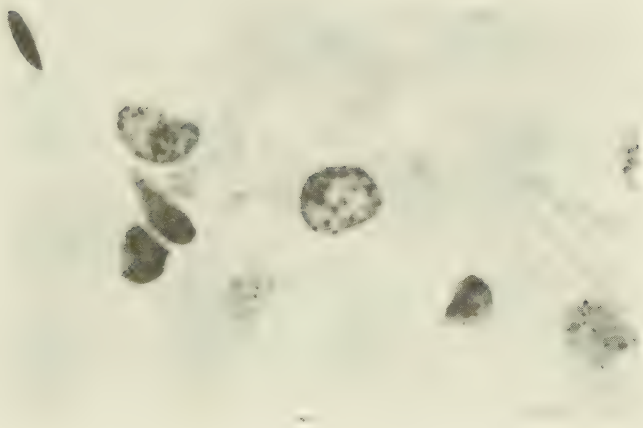
Herrn Privatdozenten Dr. W.-D. Heine danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H.-W. Altmann
danke ich für die Übernahme des Korreferates.

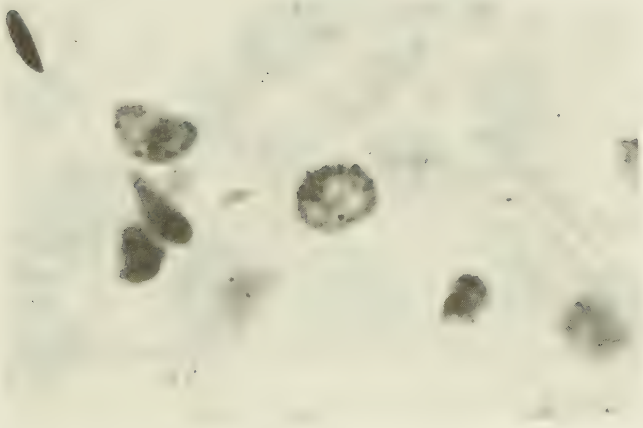
F. Abbildungen und Tabellen

Abb. 1: ^{3}H-Thymidinmarkierung eines vergrößerten Kernes in der S-Phase aus einer Epithelzelle des proximalen Nierentubulus

a) Objektebene, Vergr. 200-fach
b) Silberkornebene, Vergr. 200-fach
c) Silberkornebene, Vergr. 1280-fach



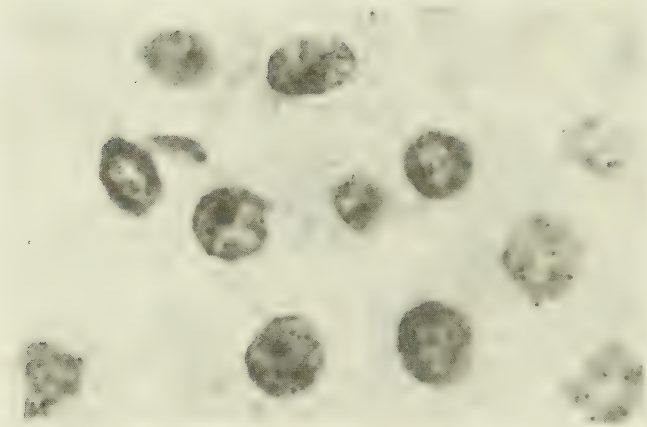
a



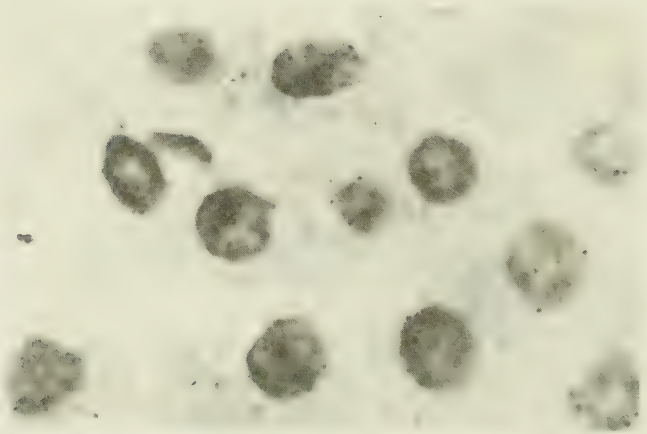
b

Abb. 2: ^{3}H-Cytidinmarkierung von Epithelzellen des proximalen Nierentubulus nach 1 Std. radioaktiver Versuchsdauer. Die meisten Silberkörner finden sich über dem Kern.

a) Objektebene, Vergr. 200-fach
b) Silberkornebene, Vergr. 200-fach



a



b

Abb. 3: ^{3}H-Cytidinmarkierung von Epithelzellen des proximalen Nierentubulus nach 3 Std. radioaktiver Versuchsdauer. Die Silberkörner sind auch über dem Cytoplasma reichlich vorhanden.

a) Objektebene, Vergr. 200-fach
b) Silberkornebene, Vergr. 200-fach

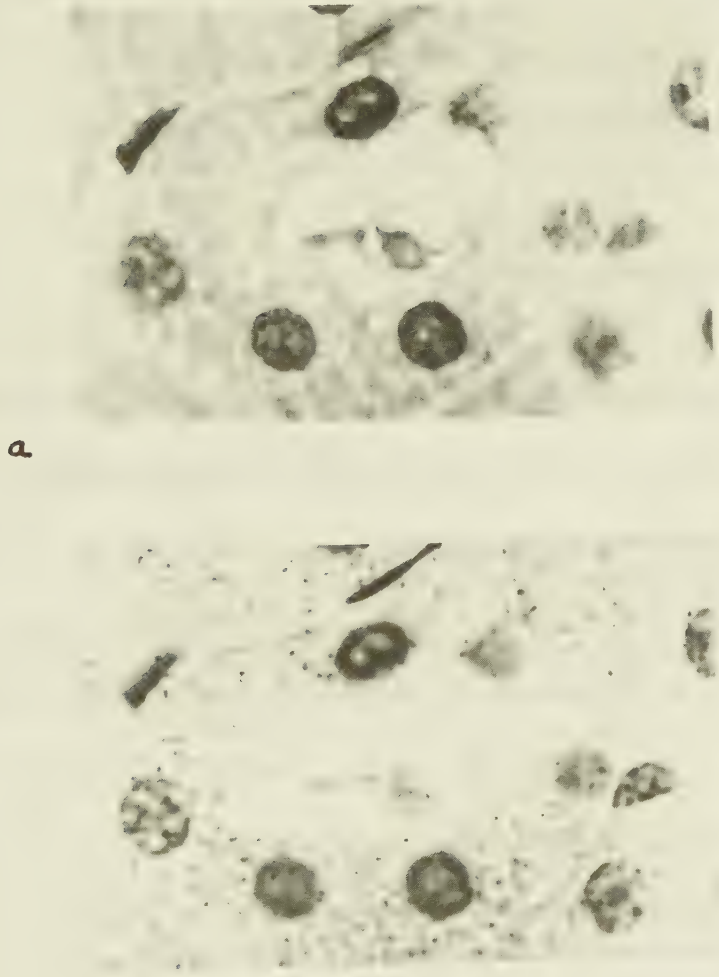


Abb. 4: ^{3}H-Cytidinmarkierung von Epithelzellen des proximalen Nierentubulus nach 15 Std. radioaktiver Versuchsdauer. Das Cytoplasma weist jetzt weitaus mehr Silberkörner auf als der Kern.
a) Objektebene, Vergr. 200-fach
b) Silberkornebene, Vergr. 200-fach

Tab. 1: Durchschnittliche mittlere Silberkorndichten im Kern

Gruppe	SKD nach 1 h	SKD nach 3 h	SKD nach 15 h
I	1,29	0,83	0,49
II	1,53	1,07	0,55
III	1,17	0,85	0,54
IV	1,46	-	-
V	1,62	0,99	0,74
VI	1,21	1,29	0,56

Tab. 2: Durchschnittliche mittlere Silberkorndichten im Cytoplasma

Gruppe	SKD nach 1 h	SKD nach 3 h	SKD nach 15 h
I	0,19	0,43	0,49
II	0,17	0,27	0,62
III	0,35	0,41	0,73
IV	0,41	-	-
V	0,35	0,73	0,94
VI	0,25	0,89	0,75

Tab. 3: Mittlere Kerndurchmesser und Kernflächen

Gruppe	Kerndurchmesser	Fläche
I	6,49	33,4
II	6,26	3o,6
III	6,61	34,3
IV	6,72	35,6
V	6,71	34,8
VI	6,74	35,2

Tab. 4: Mittlere Kernzahl/Blickfeld, Markierungs- und Mitoseindices;

a) Mittlere Kernzahl/Blickfeld

	Einzelwerte	Mittelwert und Standardabweichung
I. Gruppe	60,95 67,08 69,98	66 ± 4,61
II.Gruppe	57,35 51,07 56,65	55 ± 3,44

b) Markierungsindices

	Einzelwerte	Mittelwert und Standardabweichung
I. Gruppe	0,0656 0,0745 0,0714	0,0705 ± 0,0045
II.Gruppe	0,5579 0,4699 0,1412	0,3896 ± 0,2196

c) Mitoseindices

	Einzelwerte	Mittelwert und Standardabweichung
I. Gruppe	0,0164 0 0	0,0054 ± 0,0094
II.Gruppe	0,1745 0,1550 0,0354	0,1216 ± 0,0753

G. Literaturverzeichnis

ALTMANN, H.-W. — Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas
Z. Krebsforschung 58, (632 - 645), 1952

APETZ, W. — Die Eiweiß-Synthese in der Tubulusepithelzelle der Rattenniere bei hereditärem Diabetes insipidus hypothalamicus - Autoradiographische Untersuchungen mit Phenylalanin an Brattleboro-Ratten -
Inaug. Diss. Würzburg, voraussichtlich 1980

BALMENT, R.J., HENDERSON, I.W., OLIVER, J.A. — The Effects of Vasopressin on pituitary Oxytocin content and plasma Renin activity in rats with hypothalamic Diabetes insipidus
Gen Comp. Endocr. 26/4 (468 - 477), 1975

BALMENT, R.J., JONES, I.C., HENDERSON, I.W., OLIVER, J.A. — Effects of Adrenalectomy and Hypophysectomy on water and elektrolyte metabolism in male and female rats with inherited hypothalamic Diabetes insipidus
J. Endocr. 71/2 (193 - 217), 1976

BOHLE, A. — Niere und harnableitende Organe
in: Lehrbuch der Allg. Pathologie und pathol. Anatomie, (Hrg. M. Eder und P. Gedigk), Springer Berlin, Heidelberg, New York, (632), 1974

BRAUNHOFER, J., ZICHA, L. — Eröffnet Tegretal neue Therapiemöglichkeiten bei neurologischen und endokrinen Krankheitsbildern?
Med. Welt 36 (1875 - 1880), 1966

CAIN, H.
KRAUS, B.

Lysosomale Pigmentablagerungen in der Niere alter Wistaratten

Virchows Arch. Abt. B 10 (322 - 338), 1972

DOUSA, T.P.,
HUI, Y.F.S.,
BARNES, L.D.

Renal medullary Adenylate Cyclase in rats with hypothalamic Diabetes insipidus

Endocrinology 97/4 (802 - 807), 1975

EIGLER, J.

Nierenfunktion bei Allgemeinerkrankungen

in: Klinische Pathophysiologie (Hrg. W. Siegenthaler), (910), Thieme Stuttgart, 1976

FEINENDEGEN, L.E.,
BOND, V.P.,
SHREEVE, W.W.,
PAINTER, R.B.

RNA und DNA metabolism in human tissue culture cells studied with tritiated cytidine

Exp. Cell Res. 19 (443 - 459), 1960

FEINENDEGEN, L.E.,
BOND, V.P.,
PAINTER, R.B.

Studies on the interrelationship of RNA synthesis, DNA synthesis and the precursor pool in human tissue culture cells studied with tritiated pyrimidine nucleosides

Exp. Cell Res. 22 (381 - 405), 1961

FIRSCHING, W.

Zur zellulären RNS- und Eiweißsynthese hypothalamischer Kerngebiete von Ratten mit hereditärem centralen Diabetes insipidus

Inaug. Diss. Würzburg, voraussichtlich 1979

HEINE, W.D.

Das kompensatorische Nierenwachstum und seine Regulation
Bericht über autoradiographische Untersuchungen mit einer neuen Hypothese der Wachstumsregulation

Med. Hab. Schrift Würzburg, 1973

HEINE, W.D., STÖCKER, E.
Zur Zellproliferation bei der kompensatorischen Hypertrophie nach 2/3 Nephrektomie
Verh. Dtsch. Ges. Path. 1971, (659 - 665)

HEINE, W.D., STÖCKER, E.
Regeneration of kidney parenchyma under normal and pathological conditions
Beitr. Path. 145 (89 - 99), 1972

HEINE, W.D., STÖCKER, E., HEINE, H.D.
Tageszeitliche Rhythmen der Zellproliferation der Niere
Naturwissenschaften 57 (94), 1970

HEINE, W.D., STÖCKER, E., HEINE, H.D.
Tageszeitliche Rhythmen der Zellproliferation in der kompensatorisch regenerierenden Niere nach unilateraler Nephrektomie
Virchows Arch. Abt. B 9 (75 - 96), 1971

HÜBNER, K., KRONENBERG, Kh.
Histoautoradiographische Untersuchungen über die Tubulusregeneration nach temporärer Ischämie der Niere und doppelseitiger Adrenalektomie
Verh. Dtsch. Ges. Path. 1970, (559 - 564)

HUNT, N.H., PERRIS, A.D., SANDFORD, P.A.
Role of Vasopressin in the mitotic response of rat bone marrow cells to haemorrhage
J. Endocr. 72/1 (5 - 16), 1977

IZAWA, M.
Studies on RNA turnover in rat tissues
Yonago Acta medica 20/2 (108 - 118), 1976

JURNA, I.
Antiepileptica
in: Allgem. und spezielle Pharmakologie und Toxikologie (Hrg. W. Forth, D. Henschler, W. Rummel) (398 - 404), Bibliographisches Institut Mannheim, Wien, Zürich, 1975

LAYCOCK, J.F.
Review. The Brattleboro rats with hereditary hypothalamic Diabetes insipidus as an ideal experimental model
Lab. Anim. 10/3 (261 - 270), 1976

LAYCOCK, J.F.
The Brattleboro rat with hereditary hypothalamic Diabetes insipidus
Gen. Pharmacol. 8/5-6 (297 - 302), 1977

LIEBSCHER, W.
Studien zur zellulären Eiweiß- und Nukleinsäuresynthese im Leberepithel teilhepatektomierter Ratten
Inaug. Diss. Würzburg, 1970

MÖHRING, J., DAUDA, G., HAACK, D., HOMSY, E., KOHRS, G., MÖHRING, B.
Increased potassium intake and kaliopenic nephropathy in rats with genetic Diabetes insipidus
Life Sciences 11/I (679 - 683), 1972

MÖHRING, J., SCHÖMIG, A., BREKNER, H., MÖHRING, B.
ADH-induced Potassium retention in rats with genetic Diabetes insipidus
Life Sciences 11/I (65 - 72), 1972

MÖHRING, B., MÖHRING, J., DAUDA, G., HAACK, D.
Potassium deficiency in rats with hereditary Diabetes insipidus
Amer. J. Physiol. 227 (916 - 920), 1974

MÖHRING, J., MÖHRING, B., SCHÖMIG, A., SCHÖMIG-BREKNER, H., HAACK, D.
Acute effects of vasopressin on potassium and water balance in rats with Diabetes insipidus
Amer. J. Physiol. 227 (921 - 926), 1974

MÖHRING, B., MÖHRING, J.
Plasma ADH in normal Long Evans rats and in Long Evans rats heterozygous and homozygous for hypothalamic Diabetes insipidus
Life Sciences 17/8 (1307 - 1314), 1975

MÜLLER, D., MAURER, W.
Autoradiographische Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel der Niere bei der Ratte nach Nephrektomie
Beitr. Path. Anat. 131/2 (121 - 136), 1965

PAULINI, K., BENEKE, G., KULKA, R.
Zytophotometrische DNS-Messungen nach einseitiger Nephrektomie in Abhängigkeit vom Lebensalter
Beitr. Path. Anat. 141 (81 - 88), 1970

PERRY, R.P., ERRERA, M., Hell, A., DÜRWALD, H.
Kinetics of nucleoside incorporation into nuclear and cytoplasmatic RNA
J. Biophys. Biochem. Cytol. 11 (1 - 13), 1961

REMMER, H.
Induction of drug metabolizing enzyme system in the liver
Eur. J. Clin. Pharmacol. 5 (116), 1972

ROBKE, K.
Über den Einfluß von bleibedingten Kerneinschlüssen auf den zellulären Ribonukleinsäure- und Eiweißstoffwechsel im Hauptstückepithel der Rattenniere
Inaug. Diss. Würzburg, 1967

ROMEN, W.
Entgiftungsfunktion des Nierentubulus
Med. Klin. 71 (1288 - 1291), 1976

ROMEN, W., BANNASCH, P.
Speicherung von Mucopolysacchariden und Lipoiden in Tubulusepithelien der Rattenniere nach experimenteller

Nierenvenenthrombose

Virchows Arch. Abt. B 10 (51 - 66), 1972

ROMEN, W., HEINE, W.D.
Nierenparenchymveränderungen bei 5/6 nephrektomierten Ratten

Virchows Arch. Abt. A 356 (42 - 57), 1972

ROSENBLOOM, A.A., FISHER, D.A.
Radioimmunoassayable AVT and AVP in adult mammalian brain tissue. Comparison of normal and Brattleboro rats

Neuroendocrinology 17/4 (354 - 361), 1975

SCHULTZE, B.
Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm

in: Handbuch der Allgem. Pathologie (Hrg. H.-W. Altmann, F. Büchner u.a.), Bd. II/5, (466 - 670), Springer Berlin, Heidelberg, New York, 1968

SIEGENTHALER, W., WERNING, C., VETTER, W.
Nebennierenrinde

in: Klin. Pathophysiologie (Hrg. W. Siegenthaler) (345), Thieme Stuttgart, 1976

SOKOL, H.W., VALTIN, H.
Morphology of the Neurosecretory System in rats homozygous and heterozygous for hypothalamic Diabetes insipidus

Endocrinology 77 (692 - 700), 1965

SONDEREGGER, P.
Der juxtaglomeruläre Apparat bei Diabetes insipidus

Beitr. Path. Anat. 151 (361 - 372), 1974

STÖCKER, E. — Studien zur zellulären Eiweiß- und Nucleinsäuresynthese in normalen und durch Thioacetamid beeinflußten Leberzellen der Ratte. Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Phenylalanin, Cytidin und Thymid

Med. Hab. Schrift, Würzburg 1963

STÖCKER, E., CAIN, H., HEINE, W.D. — Zur initialen Zellvermehrung der Tubulusepithelien nach Ischämie der kontralateralen Niere

Naturwissenschaften 51 (195 - 196), 1964

STÖCKER, E., HEINE, W.D. — a) Über die Proliferation von Nieren- und Leberepithel unter normalen und pathologischen Bedingungen

Beitr. Path. Anat. 131 (410 - 434), 1965

STÖCKER, E., HEINE,W.D. — b) Zum initialen Mitosegipfel in Tubulusepithelien nach Ischämie der kontralateralen Niere

Naturwissenschaften 52 (212), 1965

STÖCKER, E. TEUBNER, E. ROSENBUSCH, G. — Die DNS-Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte

Verh. Dtsch. Ges. Path. 48 (295 - 299), 1964

TIETZE, H.U. — Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen zur antidiuretischen Wirksamkeit von Carbamazepin (Tegretal^{R})

Med. Hab. Schrift, Erlangen-Nürnberg, 1973

VALTIN, H. — Hereditary hypothalamic Diabetes insipidus in rats (Brattleboro Strain). A useful experimental model

Amer. J. Med. 42 (814 - 827), 1967

VALTIN, H.

Hereditary hypothalamic Diabetes insipidus. Animal model. Hereditary hypothalamic Diabetes insipidus in the Brattleboro Strain of rat

Amer. J. Path. 83/3 (633 - 636), 1976

VALTIN, H., SAWYER, W.H., SOKOL, H.W.

Neurophysicial principles in rats homozygous and heterozygous for hypothalamic Diabetes insipidus

Endocrinology 77 (701 - 706), 1965

VALTIN, H., SOKOL, H.W., SUNDE, D.

Genetic approaches to the study of the regulation and actions of Vasopressin

Recent Progr. Hormone Res. 31 (447 - 486), 1975

VANDESANDE, F., DIERICKX, K.

Immuno cytochemical demonstration of the inability of the homozygous Brattleboro rat to synthesize Vasopressin and Vasopressin associated Neurophysin

Cell Tissue Res. 165/3 (307 - 316), 1976

WEISBECKER, L.

Hormone

in: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie (Hrg. W. D. Keidel) (200), Thieme Stuttgart, 1973

WRIGHT, W.A., KUTSCHER, C.L.

Vasopressin administration in the first month of life effects on growth and water metabolism in hypothalamic Diabetes insipidus rats

Pharmacol. Biochem. Behav. 6/5 (505 - 509), 1977

Lebenslauf

Am 26. 10. 1954 wurde ich als zweiter Sohn des Studiendirektors Dr. Emil Höring und seiner Ehefrau Ella, geb. Klöfer, in Würzburg geboren. Hier wuchs ich die ersten Jahre meines Lebens auf.

1959 zog ich mit meinen Eltern nach Athen/Griechenland, wo ich von 1960 - 1964 die Volksschule an der Deutschen Schule Athen besuchte. Nach der Rückkehr nach Deutschland war ich vom September 1964 an Schüler des humanistischen Wirsberg-Gymnasiums Würzburg, an dem ich 1973 die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem WS 1973/74 begann ich mein Medizinstudium an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Im SS 1975 legte ich dort die ärztliche Vorprüfung, im WS 1976/77 den 1. Teil des Staatsexamens ab. Vom WS 1977/78 an studierte ich an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, wo ich mich im SS 1978 dem 2. Teil und im Oktober 1979 dem 3. Teil des Staatsexamens unterzog.

Im WS 1978/79 und SS 1979 absolvierte ich mein Praktisches Jahr am Klinikum Minden/Westfalen (Chirurgie, Innere Medizin, Anästhesiologie).

Am 9. 3. 1979 heiratete ich Christa-Maria Reiß.

Emil Höring

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80